



N° d'ordre :

N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Contribution à l'étude de l'alpha amylase levurienne :
optimisation des conditions de production**

Présenté par :

FERHAT HAMIDA Sara et LAKLOUKA Naziha

Soutenue le : 1/6/2015 devant le jury composé de :

Présidente	Mme	S. BOUTELLISE	M.A.B	Université d'El Oued
promoteur	M	A T. LAICHE	M.A.A	Université d'El Oued
examineur	M	A R. KIRAM	M.A.B	Université d'El Oued

Année universitaire 2014/2015



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A celle qui m'a ouvert les portails et m'a donné la tendresse et le courage

A celle qui endeuillée pour me rendre heureuse

A celle qui attend chaleureusement ce jour: «ma chère Mère»

A celui qui a fait des grands efforts pour mon bonheur

A celui qui a rêvé de voir cette journée

A celui qui m'a orienté et m'a pris les secrets de la vie

« mon Père »

A celui qui m'a aidée par sa prière «ma grand-mère»

A mon cher frère "Yacine"

A mes sœurs "Hadjer", "Imane ", "Nabila", "Nardjes" et "Safa"

A tous les oncles et tantes

Aussi à tous mes amis : "Nabila", "Noura", "Nazih", "Widad",

"Maryam", " Khawla ", "Sabrin", "Hadjer", "Naima", "Nadjate",

"Maryam. S", "zineb", "sara", et les deux sœurs "Kinza, Sabrine"

A tous la promotion 2015 De la 2^{ème} master biochimie applique.

A tous ceux m'ont aidé de prêt ou de loin.

SARA

Dédicace

J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail :

*À mes chers parents : ma mère ZOHRA et mon père MEHAMMED LAKHDAR,
pour leur aide et ceux qui m'ont toujours encouragé.*

À mes sœurs : ASMA, HADJRA, KHAOULA

À mes frères : MEHAMMED HAMDI, ABDERRAZAK

*Vous vous êtes dépensés pour moi sans compter
en reconnaissance de tous les sacrifices consentis par tous et
chacun pour me permettre d'atteindre cette étape de ma vie et
pour leurs soutien morale.*

A mes oncles, mes tantes, mes cousins, mes cousines.

NAZIHA





Remerciements

*Nous remercions dieu tout puissant
de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens
afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos vifs
remerciements et notre profonde gratitude à nos encadreurs monsieur
LAICHE AMMAR TOUHAMI, qui a proposé le thème de ce mémoire, et pour ses conseils
et ses dirigés tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions également même **Mme BOUTELLISE SAFIA** pour avoir
accepté présider ce mémoire.*

*Nous adressons nos remerciements à **M KIRAM ABDERRAZAK** pour avoir accepté
de d'examiner ce jury.*

*Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce
travail ont particulier **M TLIBA ALI** et **M^{elle} HAMMAMI HADIA** : l'équipe de laboratoire
de département des sciences et technologies.*

*Par la même occasion, nous ne manquerions pas de remercier infiniment tous ceux
qui porté de l'aidés dans nos recherches notamment **M ZAID ALIA** et tout le personnel de la
bibliothèque de département des Sciences de la Nature et de la Vie pour leur disponibilité.*

Résumé

Ce travail porte sur l'isolement des souches levuriennes à partir du blé dur et la culture de ces dernières dans un milieu à base de jus de datte afin d'optimiser la production l' α -amylase.

L'analyse physico-chimique de sirop de dattes employé a révélé un substrat de fermentation de pH acide 5.68, riche en sucres facilement fermentescibles (30.53% MS), alors que la quantité de cendre (2%) explique la teneur moyenne en éléments minéraux. Cette composition peut révéler un milieu favorable pour le développement des levures et l' α -amylase.

Nous avons sélectionné six souches levuriennes productrices d' α -amylase (S1, S2, S3, S4, S5 et S6) à partir du blé dure (*Triticum durum*) locale de la wilaya d'El-oued, ces souches seront cultivées dans le sirop de datte enrichie par certains éléments minéraux. La cinétique de production de biomasse et d' α -amylase a été étudiée quotidiennement.

Nos résultats ont montré que la biomasse apparait dès les 2^{ème} jour et atteint son maximum au 3^{ème} jour d'incubation pour la plupart des souches avec une maximum biomasse chez le S5 (48g/l).

De même, le maximum de sécrétion de l'enzyme est atteint à la fin d'incubation pour la plupart des souches avec une maximum sécrétion d' α -amylase observée chez la souche S1 (1444.61 μ g/ml/h).

Pour le but d'optimiser la production de biomasse et d' α -amylase, on a changé les pH (pH: 4, 7 et 8) et la concentration d'amidon (15, 20 et 25 g/l) dans le milieu de culture.

Ces résultats montrent que la maximum biomasse est enregistré chez le S3 et S4 dans le milieu acide avec valeur 48 g/l. alors que la maximum sécrétion de l'enzyme a été enregistré chez la S6 dans le milieu de pH= 8 avec valeur 1504.37 μ g/ml/h. aussi la S6 produit le maximum de biomasse dans le milieu B avec valeur 54 g/l dans la 2^{ème} jour et le maximum de sécrétion d'enzyme α -amylase avec valeur 1577.26 μ g/ml/h dans le milieu C à la fin d'incubation.

Mots clé: Sirop de datte, Blé, Levure, L' α -amylase, Biomasse, Amidon.

<i>Sommaire</i>	
Introduction générale	
Listes des tableau	
Listes des figures	
Abréviation	
<i>Partie bibliographique</i>	
<i>CH I: L'α-amylase</i>	
I.1. Définition	03
I.2. Nomenclature de l'α-amylase	03
I.3. Structure de l'α-amylase	03
I.4. Mécanisme d'action	05
I.5. Caractéristiques de l'α-amylase	06
I.6. Effecteur	06
I.7. Différentes origines	07
I.7.1. Origine animale	07
I.7.2. Origine végétale	07
I.8. Intérêt et utilisation industrielle	08
<i>CH II: Les levures</i>	
II.1. Définition	10
II.2. Habitats	10
II.3. Morphologie	10
II.4. Structure	11
II.5. Reproduction	12
II.5.1. Reproduction végétative	12
II.5.2. Reproduction sexuée	13
II.6. Classification	13
II.7. Physiologie et de croissance de levure	14
II.7.1. Facteur nutritionnels	14
II.7.2. Conditions physicochimiques de croissances	16
II.8. Avantage des levures industriel	16
II.9. Applications des levures	17
II.9.1. Boissons alcoolisées	17
II.9.2. Panification	17
II.9.3. Production des enzymes	17
II.9.4. Affinage des fromages	18
II.9.5. Production de protéines	18
II.9.6. Production des alcools industriels	19
<i>CH III: Le sirop de datte</i>	
III.1. Datte	20
III.1.1. Définition	20
III.1.2. Variétés de dattes	20
III.1.2.1. Deglet-Nour	20
III.1.2.2. Dattes communes	21
III.1.2.3. Variétés secondaires	21
III.1.3. Classification des dattes	21
III.1.4. Composition chimique de la datte	21
III.1.4.1. Principaux constituants de la pulpe	21
III.1.4.2. Principaux constituants du noyau	23

III.1.5.Transformation	23
III.2. Sirop de datte	24
III.2.1. Définition	24
III.2.2. Composition biochimique du sirop de dattes	24
III.2.3. Propriétés du sirop de dattes	25
III.2.3.1. Propriétés organoleptiques du sirop	25
III.2.3.2. Propriétés physiques du sirop	25
III.2.3.3. Aspects bactériologiques	25
III.2.4. Utilisations de sirop de dattes	26
Partie expérimentale	
CH I: Matériel et méthodes	
I.1.Matériels végétaux	27
I.1.1. Choix du matériel végétal	27
I.2. Etude de la composition chimique de farine de blé dur (<i>Triticum durum</i>)	27
I.2.1. Détermination d'humidité	27
I.2.2. Taux de cendre	27
I.2.3. Mesure de pH	27
I.2.4. Dosage des sucres totaux	28
I.2.5. Dosage des sucres réducteurs	28
I.2.6. Dosage des protéines	28
I.3. Isolement et ensemencement des levures à partir du blé dur (<i>Triticum durum</i>)	28
I.3.1. Méthodes d'isolement et d'ensemencement	28
I.3.2. Purification des souches levuriennes	30
I.3. 3. Sélection des souches levuriennes amylolytiques	31
I.3.4. Conservation	31
I.4. Elaboration du sirop de datte	31
I.5. Analyses physico-chimiques de sirop de datte	32
I.6. Production de l'enzyme	32
I.6.1. Préparation de milieu enrichi	32
I.6.2. Préparation de l'inoculum	33
I.7. Cinétique de production de l' α -amylase.	33
I.7.1. Mesure du pH	33
I.7.2. Séparation de la biomasse	33
I.7.3. Dosage de l'activité α -amylasique	33
I.9. Etude de l'optimisation de production d' α -amylase	33
I.9.1. Effet du pH	34
I.9.2. Effet de concentration de l'amidon	34
CH II: Résultats et discussion	
II.1. Etude de la composition physicochimique de la farine de blé dur (<i>Triticum durum</i>)	35
II.1.1. Humidité	35
II. 1. 2. Taux de cendres	35
II. 1. 3. pH	36
II. 1. 4. Teneur en protéines	36
II. 1. 5. taux de sucre	36
II. 2. Isolement des souches levurières	36
II.3. Sélection de souches amylolytiques	38
II.4. Composition chimique du sirop de dattes	39
II.4.1. Humidité	39

II.4.2. Taux de cendres	39
II.4.3. pH	39
II.4.4. Teneur des Sucres	40
II.5. Cinétique de la production d' α -amylase	40
II.5.1. Variation de PH	40
II.5.2. biomasse	41
II.5.3. Activité amylasique	43
II.6. Optimisation des paramètres de la culture	44
II.6.1. PH de milieu	44
II.6.1.1. Variation de pH	45
II.6.1.2. Biomasse	47
II.6.1.3. Activité amylasique	49
II.6.2. Concentration de l'amidon	50
II.6.2.1. Variation de pH	51
II.6.2.2. Biomasse	52
II.6.2.3. Activité amylasique	54
Conclusion générale	56
Références bibliographique	58
Annexes	

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Applications industrielles de l'alpha-amylase	08
Tableau 2	Composition moyenne d'une levure sèche.	12
Tableau 3	Besoins élémentaires de levure.	15
Tableau 4	Production et utilisation de certaines enzymes levuriennes.	18
Tableau 5	Utilisation des levures et de leurs produits.	19
Tableau 6	Teneur moyenne de la date en sucres.	22
Tableau 7	Composition vitaminique moyenne de la datte sèche.	23
Tableau 8	Composition biochimique des noyaux des dattes Irakiennes.	23
Tableau 9	Compositions biochimiques de sirop de datte.	24
Tableau10	Composition physicochimique et biochimique du blé dur (<i>Triticum durum</i>).	36
Tableau11	Caractéristiques biochimiques du sirop de datte utilisé	40

Liste des figures

Numéro	Titer	Page
Figure 1	La représentation des domaines et des éléments de la structure secondaire de l' α -amylas.	04
Figure 2	Représentation de Structure secondaire et tertiaire de l' α -amylase de l'orge.	05
Figure 3	Mécanisme catalytique.	05
Figure 4	L'aspect morphologique d'une levure.	11
Figure 5	Représentation idéalisée d'une cellule de levure.	11
Figure 6	Types de division	12
Figure 7	Cycle biologique de la levure <i>S. cerevisiae</i> .	13
figure 8	Datte et noyau du palmier dattier d'après.	20
figure 9	Techniques d'isolement et de dénombrement des souches fongique.	29
Figure 10	Les étapes de purification des levures.	30
Figure 11	Processus de préparation et filtration le sirop de datte	32
Figure 12	Aspect macroscopique des souches levuriennes isolées (après 72 h d'incubation).	38
Figure 13	L'aspect microscopique des souches	38
Figure 14	Test de sélection de souches amylolytiques. Développement de zones de lyse pour les souches S1, S2, S3, S4, S5 et S6, après 72 h d'incubation.	39
Figure 15	Variation du PH de milieu au cours de la culture.	41
Figure 16	Variation de la biomasse au cours de la culture.	42
Figure 17	Variation du l'activité amylasique au cours de la culture.	44
Figure 18	L'évolution de pH pendant l'incubation en fonction du pH initial du milieu.	46
Figure 19	L'évolution de la biomasse pendant l'incubation en fonction du pH initial du milieu.	48
Figure 20	L'évolution de l'activité amylasique pendant l'incubation en fonction du pH initial du milieu.	50
Figure 21	L'évolution du pH pendant l'incubation en fonction de la concentration de l'amidon.	52
Figure 22	L'évolution de la biomasse pendant l'incubation en fonction de la concentration de l'amidon.	54
Figure 23	L'évolution de l'activité amylasique pendant l'incubation en fonction de la concentration de l'amidon.	55

Abréviation

A	Milieu contenant 15 g/l amidon
ARN	Acide ribonucléique
Asp	acide aspartique
ATP	Adénosine très phosphate
B	Milieu contenant 20 g/l amidon
C	Milieu contenant 25 g/l amidon
Glu	Acide glutamique
H	Heure
HMF	hydroxy-méthylfurfural
Mg	Milli gram
MS	Matière sèche
NAD⁺	Nicotinamide adénine dinucleotide
PDA	Potato Dextrose Agar
pH	potentiel d'Hydrogène
S	Souche
SM	solution mère
µg/ml/h	Micro gram / milli litre/ heure
µ	Micron

Introduction générale

Introduction générale

La biotechnologie consiste à l'utilisation des organismes (champignons, levures, bactéries, plantes), dans les diverses activités industrielles. (CHEVALLIER, 1990). Les biotechnologies trouvent leurs application essentiellement dans la santé, l'énergie, l'environnement, l'agriculture et l'alimentation...etc (TANTAOUI EL ARAKI, 2005).

Les produits des biotechnologies modernes de levure empiètent sur de nombreux secteurs commercialement importants, y compris alimentaires, boissons, produits chimiques, produits pharmaceutiques, des enzymes industriels, agro-alimentaire et l'agriculture. La grande majorité des levures sont bénéfiques pour la vie humaine (SATYANARAYANA, GOTTHARD, 2009).

Les levures sont des microorganismes eucaryotes et de champignons unicellulaires ayant des capacités à se multiplier rapidement car elles sont moins exigeantes en nutriments (LAMMI, 2011). Elles sont facilement mises en œuvre dans d'autres exploitations (culture, recherche et applications industrielles) par rapport aux procaryotes. (BENAOUIDA, 2008). Communautés de levure ont été trouvés en association avec les plantes (graines, fruits,...), les animaux et les insectes (SATYANARAYANA, GOTTHARD, 2009).

Les graines de céréales comme le blé, riz, orge, et les fruits comme la datte, la tomate, l'orange, constituent, depuis toujours, la principale ressource alimentaire de l'Homme et de l'animal. Malheureusement, de nombreux agents de détériorations (vertébrés, insectes, moisissures, levure,...) peuvent y se développer. Donc ces aliments et y compris les grains de céréales sont des milieux propices au développement des ces micro-organismes (ZOUAOUI, 2012; SIBOUKEUR *et al.*, 2001 et SACI, 2012).

L'utilisation des ces aliments comme source ou milieu de culture de micro-organisme par la biotechnologie pour produire de nombreux produits est récemment très courant, parmi ces produits figure l' α -amylase bactérienne ou fongique (moisissure, levure). Cependant, les moisissures et les levures sont considérées comme les microorganismes les plus importants en biotechnologies par leur forte activité enzymatique (NOUADRI. 2011).

L' α -amylase comme toutes les enzymes est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires. Les α -amylases microbiennes sont parmi les enzymes les plus utilisés dans les procédés industriels: industrie alimentaire, pharmaceutique, textile, papeterie, et détergent, en raison de leur productivité et thermo-stabilité (MERABTI, 2006).

Dans notre étude portant sur la production d' α -amylase; nous avons choisi les levures isolée à partir du blé, comme agents de fermentation, vu leur place importante sur le marché des enzymes amylolytiques, et le sirop de dattes de la variété Ghars produites dans la région d'El-oued, comme substrat de fermentation, car ils ont l'avantage d'être à la fois de faible valeur marchande, abondants et théoriquement inépuisables.

Le présent travail a pour principaux objectifs, l'isolement et la sélection des levures productrices d'amylase à partir de blé d'une part, et l'optimisation du milieu de culture, constitué du moût extrait des rebuts de datte de la variété Ghars, d'autre part. La concrétisation de ce document est comme suit:

- Première partie, concerne la synthèse bibliographique sur l' α -amylase, les levures et enfin les dattes et leurs sirop.
- Deuxième partie, on s'intéresse aux matériels et aux méthodes utilisées lors de la présente étude : analyse physicochimiques du blé et de sirops de datte et l'étude de l'optimisation de la production de l'enzyme.
- Troisième partie, on présente les résultats obtenus avec leur discussion et on termine par la conclusion et les recommandations.

Partie bibliographique

CH I:

L' α -amylase

I. L' α -amylase

I.1. Définition

L' α -amylase [α -(1,4)-D-glucane glucanohydrolase (E.C.3.2.1.1)] est une endoenzyme appartenant à la famille des hydrolases (Mercier., 1985 et Keating et al., 1998). Elle hydrolyse au hasard, les liaisons osidiques de l'amylose, de l'amylopéctine, de l'amidon, du glycogène et d'autres polysaccharides contenant plus de trois liaisons α (1,4) D-Glucose (AIT KAKI-EL-HADEF et al., 2012).

Chez les mammifères, l' α -amylase est présente principalement dans les sécrétions salivaires et pancréatiques. Celle d'origine microbienne (bactéries, moisissures et levures) est exo cellulaire, exceptées certaines espèces comme *Bacillus subtilis* et *Pishia burtonii* (MOULIN et al., 1978 et MANTSALA et al., 1979).

Bien que l' α -amylase de différentes origines ait très peu de séquences d'acides aminés identiques, leur structure tridimensionnelle et l'organisation de leur site actif sont similaires (MERCIER., 1985). La valeur normale est inférieure à 90 UI/L dans le sang (COOLEY et al., 1990).

I.2. Nomenclature de l' α -amylase

Nom codifié : E.C.3.2.1.1.

Nom commun : α -amylase.

Nom systématique : 1,4- α -D-glucane-4-glucano hydrolase.

synonymes : glycogénase, endoamylase, taka-amylase, maxilase (SCHAMBURG et SLZMANN., 1991 et DAUTER et al., 1999).

I.3. la structure de l' α -amylase

L' α -amylase fongique est une glycoprotéine, comportant trois domaines globulaires (A, B et C) (FARBER et PETSKO., 1990). Elle renferme une partie glucidique, qui est formée principalement, de D-mannose, D-glucose, D-galactose, D-xylose et D-glucosamine (STEFANOVA et EMANUILOVA .,1992) associés chimiquement à la chaîne polypeptidique constituée de 471 à 483 résidus d'acides aminés, avec 4 ou 5 ponts disulfures (HESLOT., 1996).

- Le domaine central A, forme un tonneau (β/α)₈ qui contient 8 feuillé β plissés et qui se disposent de façon parallèle et de 8 hélice α , il porte le site actif à la partie C-terminale des feuillets β .

- Le domaine B est formé d'une boucle de 64 résidus d'acide aminé reliant A- β_3 avec A- α_3 et constitue une sorte de « couvercle » au-dessus du site actif.
- Alors le domaine C est constitué d'un tonneau de 8 feuillets β antiparallèles (KADZIOLA et al., 1994) (figure:1).

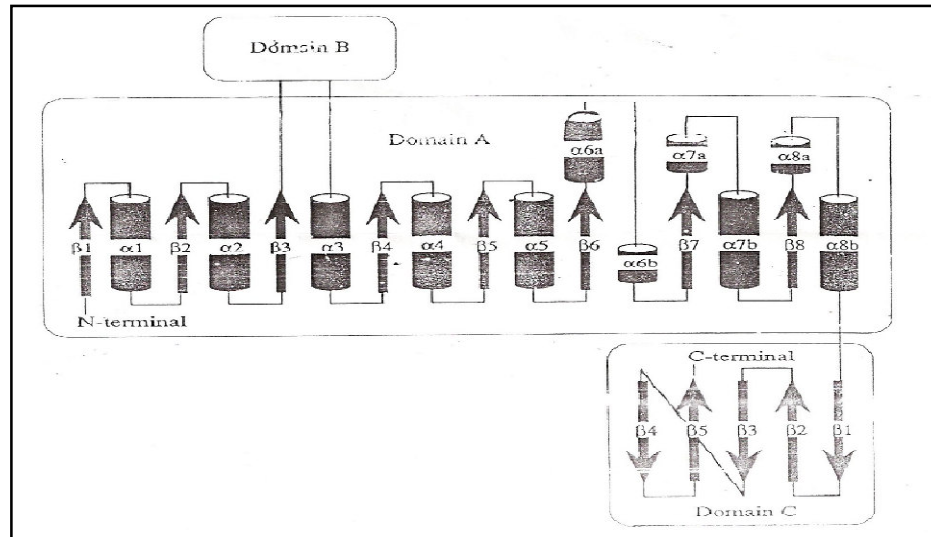


Figure 1 : La représentation des domaines et des éléments de la structure secondaire de l' α -amylase (KADZIOLA et al., 1994).

En outre, l' α -amylase est une métallo-enzyme à calcium (COMI et al., 2000 et SAVCHEKO et al., 2002). Elle comporte au moins un ion de calcium par molécule. Cet ion joue un grand rôle dans le maintien et la stabilité de la structure tertiaire de l'enzyme ainsi que dans son activité catalytique (BOEL et al., 1990). Pour certaines l' α -amylases, la présence d'un site de fixation du Cl est également signalée (HWANG et al., 1997) et pour d'autres, l'ion Zn^{2+} (COMI et al., 2000) (figure: 2).

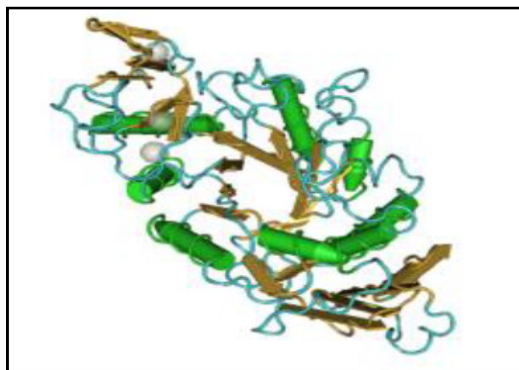


Figure 2: Représentation de Structure secondaire et tertiaire de l' α -amylase de l'orge (DEVINA., 2010).

(Les flèches cylindriques représentent les hélices α , et les flèches plates représentent les feuillets β . Les sphères translucides représentent les ions de Ca^{+2}).

I.4. Mécanisme d'action

L'activité catalytique de l'enzyme implique la participation des trois acides aminés du site actif : Asp 231 (nucléophile catalytique), Glu 261 (donneur catalytique de l'hydrogène) et Asp328 (l'aide de catalyse) (MC CARTER., WITHERS., 1996 et UITDEHAAG *et al.*, 1999). En effet, la réaction catalytique est réalisée en trois étapes:

I. Protonation de l'oxygène glucosidique par le donneur de proton Glu 261 suivi d'une attaque nucléophile sur C1 du résidu du sucre en position 1 par Asp 231 et le départ de l'extrémité réductrice du substrat (DAVIES *et al.*, 1999).

II. Activation d'une molécule d'eau, vraisemblablement par le maintien du Glu 261 de protonné (NIELSON *et al.*, 2001).

III. Régénération de l'état initial et libération de l'autre fragment du substrat, par hydrolyse du lien covalent entre l'oxygène nucléophile de l'Asp 231 et le C1 de résidu du sucre en position 1 (NIELSON *et al.*, 2001 et BENAOUIDA., 2008) (figure: 3).

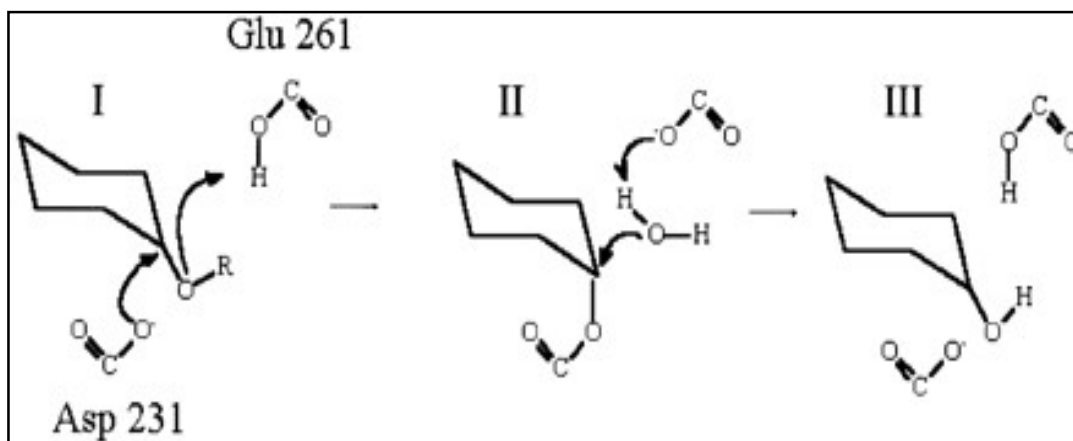


Figure 3: Mécanisme catalytique (MERABTI., 2006).

I.5. Caractéristiques de l' α -amylase

➤ Poids moléculaire

Le poids moléculaire des α - amylases varie d'une origine à l'autre et d'une espèce à l'autre. Il est compris entre 40.000 et 90.000 daltons (SCHOMBURY., SALZMANN., 1991). Celui des α - amylases levuriennes, s'échelonne entre 40.000 et 70.000 daltons (PANCHAL., 1990).

➤ PH optimum

Les α -amylases sont généralement stables dans une gamme de pH de 5 à 8, avec un optimum se situant entre 4 à 5 pour les α -amylases fongiques et un optimum supérieur à la neutralité 6 à 8.5 pour les α -amylases bactériennes (AIT KAKI-EL-HADEF A., 2012). Pour les levures, l'enzyme requiert, selon les espèces, des pH entre 4 à 6 (PANCHAL., 1990).

➤ Température optimum

Les amylases microbiennes, quant à elles, ont une forte thermostabilité (30°C–60°C) et leur température optimale peut être plus élevée, se situant entre 40°C et 70°C et (PARK *et al.*, 1997).

Selon l'origine et les espèces, les α - amylases ont des températures optimales comprises entre 40°C et 90°C (SCHOMBURY ET SALZMANN, 1991).. En effet, l'alpha amylase bactérienne est réputée pour sa grande thermo-stabilité, celle de *Bacillus amyloliquefaciens* est caractérisée par un optimum de température qui, selon les applications va de 70°C à 90°C , alors que l'alpha amylase fongique est d'une thermo-stabilité assez faible, son optimum se situe entre 50°C et 55°C (NOUADRI T., 2011). L'alpha amylase levurienne a des optimums de température, allant de 40°C à 60°C et parfois même 70°C pour certaines espèces comme *Lipomyces starkeyi* (PANCHAL., 1990).

I.6. Effecteur

Les amylases sont des métalloprotéines absolument dépendantes du Ca^{2+} qui est vraisemblablement un activateur allostérique (EGAS *et al.*, 1998). Le calcium ne participe pas directement à la formation de complexe enzyme-substrat mais il maintient l'enzyme dans une conformation optimale pour un maximum d'activité et de stabilité vis à vis de la dénaturation thermique (le maintien de sa structure tertiaire) (SAVCHEKO *et al.*, 2002) et de la dénaturation acide vis à vis de la protéolyse (NIGAM *et al.*, 1995).

Cependant les ions Cl^- , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} et Fe^{2+} sont également des activateurs de l' α -amylases (SCHOMBURG *et* SALZMANN., 1991), De plus, l'histidine , le mercaptoéthanol,

le dithiotriitol sont aussi considérés comme des activateurs et l'acide acétique stimule l' α -amylase.

L'activité enzymatique de l' α -amylase n'est pas modifiée par les ions K^+ , Na^+ , NH_4^+ mais elle est fortement inhibée par l'EDTA (agent chélateur du calcium), l'urée 8M, certains composants amides (**TORALBALLA et EITINGON., 1967**), l'acide formique, l'acide oxalique, l'acide lactique et l'acide citrique et les métaux lourds (**TALAMOND et al., 2002**). D'autres éléments, ont une action négative sur l'activité amylasique : l'iodoacétate, l'acide ascorbique, l'isopanitol et le maltotriitol (**SCHOMBURG et SALZMANN., 1991**).

I.7. Différentes origines :

L' α -amylases de différentes origines (bactérienne, fongique, animale et végétale), n'affecte pas l'activité amylolytique. Les α -amylases sont abondantes dans tous les règnes, elles ont été isolées par extraction à partir des tissus végétaux et animaux ou par fermentation par des cellules microbiennes (**NOUADRI T., 2011**).

I.7.1. Origine animale

L' α -amylase animale est généralement extraite de la salive humaine et du pancréas des mammifères tels que les porcs et les veaux (**CHATTERTON et al., 1996**). Chez l'homme, l'amylase est largement présente dans les sécrétions salivaires (amylase S) et pancréatiques (amylase P) (**COOLBEAR et al., 1992**).

I.7.2. Origine végétale :

Les α -amylases végétales possèdent une importance primordiale dans le métabolisme glucidique où elles participent à la conversion de l'amidon en le réduisant en sucres réducteurs qui sont la source énergétique nécessaire à la germination et elles sont généralement incapables d'hydrolyser le maltose (**NOUADRI T., 2011**).

Ces enzymes végétales sont généralement obtenues par extraction à partir des céréales notamment le blé, l'orge, le son ou le riz (**SRINIVASA R et al., 2004**). Elles sont souvent formées au cours de la germination des grains.

I.7.3. Origine microbienne

On distingue les α -amylases fongiques et bactérienne.

- **les α -amylases fongiques**

les α -amylases fongiques diffèrent des amylases bactériennes par une inactivation par la température, un pouvoir élevé de saccharification et un pH optimal faible (4-5)

(COSTES.,1982). La production industrielle d'enzymes à partir des microorganismes fongiques, parmi les genres *Aspergillus* et *Penicillium* (NOUADRI., 2011).

- **L' α -amylase bactérienne**

Ce type d'enzyme est obtenu principalement par fermentation de *Bacillacées*. Historiquement la première enzyme a été produite à partir de souches de *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* ou *B. subtilis* fermentant en surface (MCTIGUE et al., 1995). Par ailleurs, les levures participent également à la production de l' α -amylase (NOUADRI., 2011).

I.8. Intérêt et utilisation industrielle

Actuellement, les α -amylases microbiennes sont parmi les enzymes les plus utilisés dans les procédés industriels : industrie alimentaire, pharmaceutique, textile, papeterie, et détergent, en raison de leur productivité et thermostabilité (BEHAL et al., 2006).

- **Utilisation de l' α -amylase dans les industries agro-alimentaires**

Tableau 1: Applications industrielles de l'alpha- amylase

(NOUADRI., 2011).

Industries	Applications
Glucoserie	Solubilisation de l'amidon, accompagnée d'une chute importante de la viscosité (liquéfaction).
Sucrerie	Réduction de la viscosité des sirops de cannes à sucre, en hydrolysant les contaminants amylacés pour réussir le processus de cristallisation.
Biscuiterie et Panification	Amélioration des propriétés rhéologiques et fermentaires de la pâte, ainsi que le volume de la mie et la coloration de la croûte.

- **Domaine médical et pharmaceutique**

Dans le domaine pharmaceutique, les α -amylases sont utilisées comme agent anti-inflammatoire et aussi comme aide digestif pour éviter les dyspepsies et les fermentations intestinales (MERABTL., 2006).

Dans le domaine médical, le taux de l' α -amylase dans les liquides biologiques peut être utilisé pour détecter certaines maladies : insuffisance cardiaque, oreillons, cancer du pancréas (BENAOUIDA., 2008).

- **Autre utilisation**

Les α-amylases sont aussi utilisées dans l'industrie textile pour le désencollage des tissus ainsi que dans les domaines de la tannerie, de la papeterie et des détergents pour les lessives où elles facilitent la disparition des tâches en dégradant les souillures, permettant ainsi l'augmentation du pouvoir blanchissant. Elles sont utilisées aussi dans le traitement des eaux résiduaires pour l'élimination de l'amidon (**BENAOUIDA., 2008 et MERABTI., 2006**).

CH II:
Les levures

II. Les levures

II.1. Définition

Le mot levure, selon (**PHAFF et al., 1968**), provient du mot latin « levare » qui se traduit par lever. Ce mot a été appliqué aux levures en raison de l'aptitude de ces micro-organismes à produire de CO₂ pendant la fermentation et à lever la surface mousseuse d'un milieu liquide de fermentation (**OTENG-GYANG., 1984**). Les levures peuvent être définies comme des eucaryotes microscopiques. Elles sont des hétérotrophes faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue par leur caractère unicellulaire et l'absence de vrai mycélium (au moins dans la plus grande partie de leur cycle biologique) (**TIBOR DEAK ., 2007**).

II.2. Habitats

Dans la nature, les levures se trouvent principalement sur les végétaux riches en sucres directement assimilables. D'autres, se développent au niveau des eaux douces et profondes. Par ailleurs, une large variété de levures vit dans le sol, plus ou moins représentative de la flore levuriennes associée aux plantes, champignons et animaux vivants à la surface. Néanmoins, pour d'autres espèces, le sol demeure leur seul habitat (**MERABTI., 2006**).

II.3. Morphologie

Les cellules de levures sont généralement ovoïdes ou sphériques, parfois cylindriques (**MADIGAN., JOHN., 2007**). Leurs dimensions très variables de 1 à 5 microns et de diamètre jusqu'à 5 à 30 µ de longueur les dimensions et aspects varient selon l'âge, l'environnement et le milieu de culture (**ATI ABDEL OUAHAB., 2008**). Les cellules peuvent après bourgeonnement rester liées les unes aux autres et constituer aussi un pseudo-mycélium. Plus ou moins différencié suivant les genres ou les espèces. Dans certaines conditions, d'autres levures peuvent produire de mycéliums caractéristiques de champignons filamenteux, comportant des cloisons transversales ou septa et présentant une croissance apicale (**BOURGEOIS et al., 1988**).



Figure 4: l'aspect morphologique d'une levure (BACHA., 2008).

II.4. La structure

La structure cellulaire est de type eucaryote. La paroi rigide est de 15 à 230 nm d'épaisseur. Elle est caractérisée par la présence de polysaccharides (surtout mannane et glucane, la chitine, des protéines dont certaines sont des enzymes (invertase). Le noyau est entouré d'une membrane qui persiste pendant la division cellulaire, le nombre de chromosomes est variable suivant les levures (BOURGEOISET., 1996).

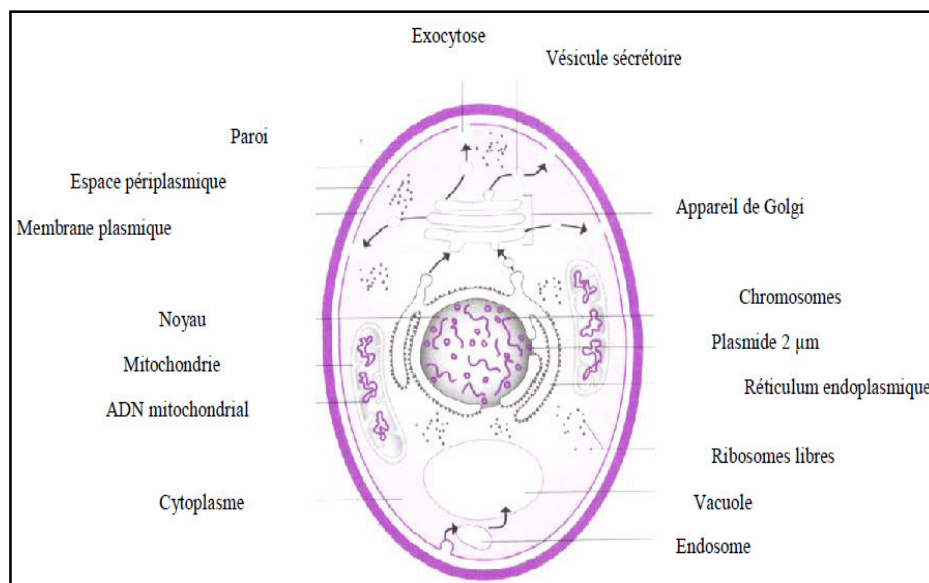


Figure 5: Représentation idéalisée d'une cellule de levure (LARPENT., 1991).

La composition chimique d'une levure est très variable suivant l'espèce. En moyenne elle s'établit dans le tableau:

Tableau 2: Composition moyenne d'une levure sèche.
(BACHA., 2008).

Composants	Teneurs (en %) pour 100G
Eau	05
Protides	45
Cendres	03
Lipides	38
Glucides	38

II.5. Reproduction

Selon les conditions physico-chimiques du milieu de culture, les cellules de la levure peuvent utiliser deux modes de reproduction différentes.

II.5.1. Reproduction végétative:

Lorsqu'on parle de bourgeonnement, cela donne à penser immédiatement aux levures. C'est le processus asexué au cours duquel la cellule mère émet une petite excroissance ou bourgeon qui augmente de taille et s'organise à l'aide d'une partie du matériel nucléaire et cytoplasmique de la cellule parentale. Cette multiplication se traduit, lors de la séparation des cellules, par la formation d'une cicatrice de bourgeonnement sur la cellule mère et d'une cicatrice de naissance sur le bourgeon. Dans le mode de multiplication par bourgeonnement, il ne se forme pas deux bourgeons sur le même site (sauf cas de bourgeonnement bipolaire) le nombre de bourgeons par cellule se trouve donc limité (BOUZEGAG., 2007).

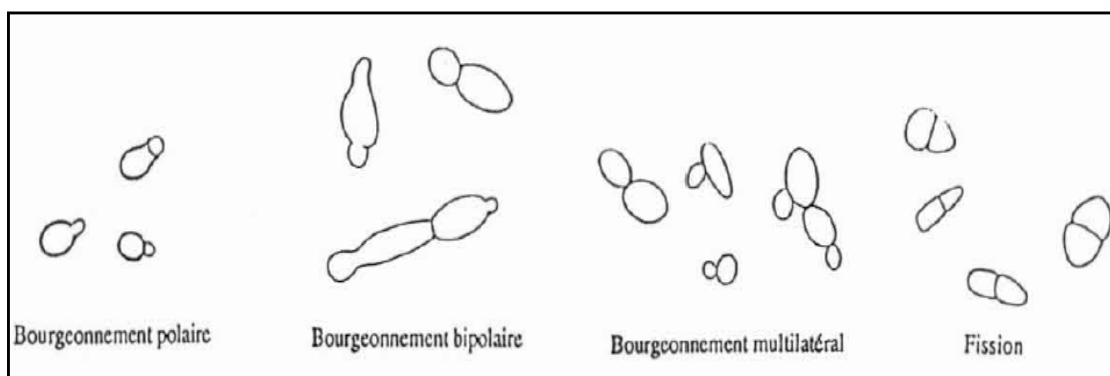


Figure 06: Types de division: 1- Bourgeonnement simple, polaire (*Saccharomyces*) 2- Bourgeonnement bipolaire (*Saccharomyces*) 3- Bourgeonnement multilatéral 4 - Scissiparité, fission (*Schizosaccharomyces*) (HENCKÉ., 2000).

II.5.2. Reproduction sexuée

Les levures appartiennent aux Eucaryotes et de ce fait, présentent les caractéristiques de la division méiotique: fusion des deux noyaux haploïdes, formation d'un noyau diploïde. La persistance de la membrane nucléaire pendant la division conduit à une structure en 4 lobes autour desquels se forme une paroi qui entraîne la rupture de la membrane nucléaire et l'individualisation des spores (**BOURAS et al., 2006**).

Certaines levures sporogènes forment des spores sur n'importe quel milieu, en revanche, d'autres exigent des conditions de croissance ou de sporulation bien déterminées. En l'absence de ces conditions, une levure sporogènes peut se multiplier indéfiniment par voie végétative (**BOURGEOIS., LARPENT., 1996**).

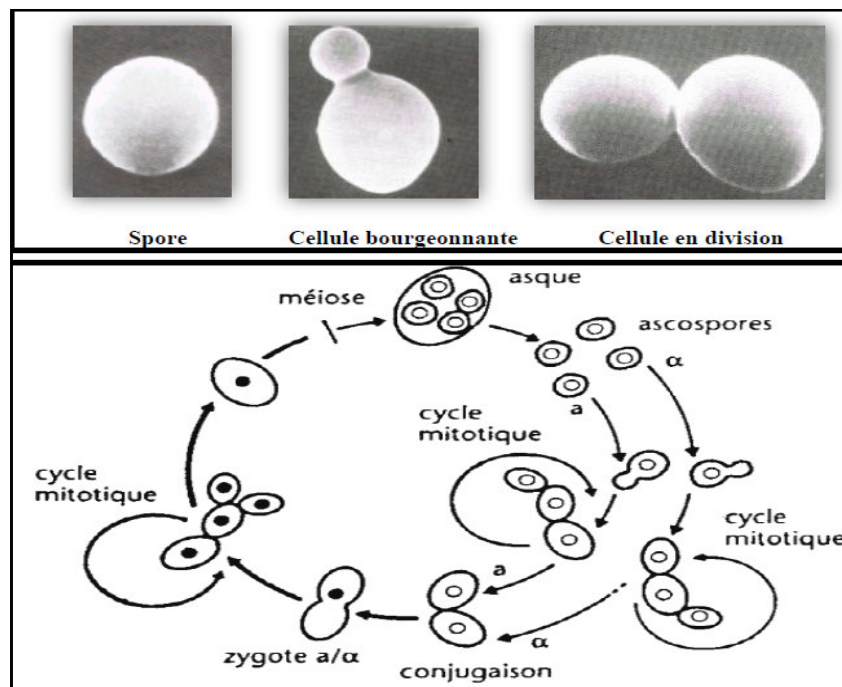


Figure 7: Cycle biologique de la levure *S. cerevisiae*. (**REFICE et al., 2011**).

II.6. Classification

La classification de référence est actuellement celle de (**KREGER-VAN., 1984**) qui présente des changements sensibles par rapport à la précédente classification de (**LODDER., 1971**). En particulier, de nouveaux critères taxonomiques comme la composition en bases de l'ADN, la structure de la paroi, le type de coenzyme Q est pris en compte pour permettre des études plus rigoureuses. La classification actuelle répertorie 60 genres et 500 espèces (**BENAOUIDA., 2008**). Selon leur mode de reproduction, les levures se divisent en trois grandes classes :

- ❖ **Les ascomycètes** : se reproduisent par un processus sexué dans un asque résultant de la transformation d'une cellule après méiose.
- ❖ **Les basidiomycètes** : réalisent une reproduction sexuée avec formation de basidiospores sur une baside.
- ❖ **Les deutéromycètes** : regroupent l'ensemble des levures ne présentant pas de mode connu de reproduction sexuée, ne se multipliant que par reproduction végétative (BENAOUIDA., 2008).

II.7. Physiologie et de croissance de levure

II.7.1. Facteur nutritionnels

Ces facteurs se rapportent au milieu de culture et sont de la levure. En effet comme tout levure à besoin d'une source nutritive croissance et éventuellement sa floculation liés aux exigences microorganisme (MOHAND MOULOUD., 1994).

- **Source de carbone**

Sont d'une grande importance pour les levures puisqu'elles fournissent, le carbone nécessaire pour la biosynthèse de constituants cellulaires et l'énergie nécessaire à son fonctionnement (WALDRON., 2010). La *Saccharomyces cerevisiae* est une espèce hétérotrophe. Elle exige pour sa croissance une source de carbone qui est également leur source d'énergie (LARPENT., 1990).

- **Source d'azote**

La plupart des levures sont capables d'utiliser l'azote sous forme d'ion ammonium (chlorure, nitrate, phosphate, mais surtout sulfate qui est le composé idéal puis qu'il apporte également du soufre nécessaire à la synthèse de certains acides aminés) (HENCKE., 2000), mais aussi des composés organiques divers, tels que les acides aminés et les peptides (LARPENT., 1990).

- **Les oligo-éléments**

Ils sont nécessaires à l'état de trace. Mais sont indispensables pour la croissance et la multiplication des levures, aussi joue un rôle dans l'activation de certaines réactions enzymatiques ainsi dans la construction de certaines vitamines et coenzymes (BOURGEOIS., LARPENT., 1996). Ils sont essentiels tant sur le plan structural que catalytique (MARLENE., 2006).

- **vitamines**

Le développement de la levure boulangère nécessite la présence de certaines vitamines, en particulier, la biotine, l'inositol, panthénate de Ca, la thiamine. Elles sont nécessaires à l'état de traces de l'ordre de milligramme par litre du milieu de culture (KHELLIL., BEN HADJ ., 1998).

Tableau 3: besoins élémentaires de levure.

(MARLENE., 2006)

Elément chimique	Intervention dans la constitution	Rôle de l'élément	Provenance, source
Hydrogène, oxygène	Des composés organiques et de l'eau	- l'O ₂ est nécessaire pour le développement - la croissance est accélérée avec l'air tandis que la consommation de sucre diminue.	Eau, air
Carbone	Des composés organiques	- source d'énergie - élément le plus abondant de la cellule (facteur limitant).	Source organique (glucose, hydrocarbures... etc...)
Azote	Des amino acide, des protéines, coenzyme	- synthèse de la matière vivante.	Azote minéral, NH ₄
Soufre	De quelques amino acides, protéines, coenzymes, phospholipides	- synthèse protéique quand présence d'un groupement sulfhydryle.	SO ₄
Phosphore	D'acides nucléiques, coenzymes, phospholipides	- indispensable à toute activité cellulaire. - une carence arrête la croissance et la multiplication cellulaire, l'activité fermentaire est peu touchée.	PO ₄ (de Ket de NH ₄)
Sel minéraux	Souvent ce sont des cofacteurs de réactions enzymatiques.	- le sort du magnésium est associé à celui du phosphore. - la levure peut se passer de calcium mais par sa présence les réactions biochimiques se font plus rapidement. - le fer et le cuivre ont un rôle dans le fonctionnement des enzymes respiratoires.	Sous forme d'ions

II.7.2. Les conditions physicochimiques de croissance

- **PH**

En général, les levures préfèrent un moyen légèrement acide et ont un pH optimum entre 4.5 et 5.5 (**MOHAND MOULOUD., 1994**). Cependant, Les levures montrent une tolérance remarquable au pH et plusieurs espèces peuvent grandir aux valeurs de pH acides fortes aussi bas que 1.5. La gamme pH réelle de croissance pour une espèce donnée dépend de la sorte de dissociation d'acide dans le moyen (**CARLOS et GABOR., 2006**).

- **Température**

La levure, comme les autres microorganismes, ne peut fonctionner que dans une gamme de température (optimale) située entre 25°C et 30°C, jusqu'à une température critique au de laquelle ne peut survivre. Dans la majorité des cas, la température ne reste pas constante pendant la croissance (**REZKI-BEKKI M., 2014**). Plus haut la température de fermentation plus haut l'effet toxique d'alcool sur membranes de cellule de levure (**KARIEN., 2008**).

- **Oxygène**

Les levures sont des organismes essentiellement aérobies. Bien que la fermentation soit la caractéristique (fonction) la plus considérable pour *Saccharomyces* et beaucoup d'autre espèce, environ moitié de toute l'espèce de levure est aérobies strictement non fermentaire. Même les levures fermentaires sont facultativement anaérobies et dans des conditions aérobies ils commutent (changent) à la respiration conformément au règlement métabolique célèbre, l'effet de Pasteur (**TIBOR DEAK., 2008**).

- **Pression osmotique et activité de l'eau**

L'effet de la pression osmotique varie d'une souche à l'autre. La plupart des souches ne peuvent se développer pour des activités de l'eau inférieures à 0,90, mais certaines tolèrent des pressions osmotiques plus élevées correspondant à une activité de l'eau de l'ordre de 0,60, mais avec un métabolisme lent (**LEVEAU., BOUIX., 1979**).

II.8. Avantage des levures industriel

Par rapport aux bactéries, les levures présentent des éléments favorables quant à leur utilisation en biotechnologie. Elles offrent donc une meilleure résistance que les bactéries à ces conditions de stress, en particulier la possibilité à des pH acides.

Leur utilisation dans l'alimentation a fait de sorte que les levures soient globalement plus connues pour leur efficacité en fermentation industrielle que d'autres micro-organismes.

Elles ne sont pas attaquées par des virus (phages), elles sont facilement récupérables grâce à leur grosseur. La stabilité génétique des levures permet aussi une très bonne fidélité du procédé et la connaissance de leur physiologie cellulaire facilite leur utilisation (LABRECQUE., 2003).

Les seuls éléments défavorables, quant à leur utilisation, dans le domaine de la dépollution sont leur croissance relativement lente (120 minutes) par rapport aux bactéries (20 minutes) et le choix limité d'espèces, nous constatons que les nombreux avantages des levures l'emportent sur leurs quelques inconvénients. (LABRECQUE., 2003).

Enfin, les bonnes connaissances de la biologie moléculaire des levures et la mise au point de techniques de génie génétique, permettant de programmer les levures de façon qu'elles expriment des protéines humaines et animales recombinantes ; constituent une grande réussite des biotechnologies surtout d'intérêt médical (par les productions d'enzymes, d'hormones peptidiques, de facteurs de croissance, d'hémoglobine, de ferritine, l'érythropoïétine, etc.) (LAMMI., 2011).

II.9. Les applications des levures

Les levures ont de grandes activités métaboliques et sont donc très utilisées dans domaine agricoles et alimentaires:

II.9.1. Boissons alcoolisées

Le rôle, le plus ancien des levures est la fabrication de boissons alcoolisées (bière, vin, cidre) (TIBOR DEAK., 2007). Cette fabrication repose sur la fermentation alcoolique, qui consiste à transformer les sucres simples en alcool. Ainsi, elles interviennent au cours de la vinification et de l'élaboration de la bière. L'espèce la plus utilisée par l'homme est *Saccharomyces cerevisiae*, appelée aussi levure de bière pour son innocuité (LEVEAU., BOUIX, 1993., HENCKÉ., 2000 et ALNAJJAR., 2001).

II.9.2. Panification

Une autre utilisation, connue depuis l'antiquité, est la fabrication du pain : Le dégagement de gaz carbonique, qui accompagne la fermentation, permet de faire lever la pâte en lui conférant une texture légère (SIMON et MEUNIER., 1970., COFALEC., 2006).

II.9.3. Production les enzymes

L'utilisation des levures dans la production d'enzymes amylolytiques est de plus en plus sollicitée à cause de la facilité de leur culture et l'absence de risques pathogènes (LAGZOULI M et al., 2007). Aujourd'hui, les levures constituent une des importantes

sources d'enzymes produites commercialement en raison de leurs capacités polyvalentes et de la frugalité de leurs exigences permettant d'obtenir une biomasse importante à bas prix (POL., 1996). En effet, l'invertase ou saccharase sécrétée par diverses levures est utilisée industriellement pour produire du glucose et du fructose à partir de mélasses de betterave ou de cannes à sucre (SIMON et MEUNIER., 1970).

Tableau 4 : Production et utilisation de certaines enzymes levuriennes.

(BENAOUIDA., 2008)

Type d'enzyme	Levure utilisées	Utilisations
Amylases	<i>Lipomyces starkey</i> <i>Schwanniomyces castellii</i>	Saccharification de l'amidon, boulangerie, textile, papeterie.
Invertases	<i>Saccharomyces carlbergensie</i> <i>Saccaromyces cervisiae</i>	Confiserie
Lipases	<i>Candida lipolytica</i>	Fromagerie, laiterie
Lactases	<i>Candida pseudotropicalis</i> <i>Kluyvaromyces fragilis</i> <i>Kluveromyces lactis</i>	Crèmes galacées.

II.9.4. Affinage des fromages

Les levures sont aussi capables d'utiliser les acides organiques comme source d'énergie et de carbone (LARPENT., 1991). Elles participent à l'affinage des fromages; en consommant L'acide lactique produit par les bactéries lactiques à partir des composants du lait. Elles contribuent aussi à réduire l'acidité du caillé (LEVEAU., BOUX., 1993). Ainsi qu'en développant à la surface de certains fromages jeunes à Morge ou à croute moisie, elles contribuent à leur désacidification. Par leurs enzymes protéolytiques et lipolytiques, elles jouent un rôle dans la formation de l'arome. (LUPIEN., 1995). De nombreuses espèces se rencontrent en fromagerie, les plus fréquentes appartenant aux genres *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida* et *Rhodotorula* (LARPENT., 1991).

II.9.5. Production de protéines

Les levures constituent une source précieuse de protéines car elles sont le siège d'une biosynthèse protéique très active. Elles sont utilisées à la production de protéines d'organismes unicellulaires, qui sont souvent incorporées à l'alimentation animale et humaine. Cette production peut s'effectuer sur des substrats considérés comme des déchets tels que le lactosérum et les résidus de pâte à papier (BESSAH et TOUZI., 2001 et BENAOUIDA.,

2008). Et de plus en plus comme source de protéines. Dans le premier cas, elles sont cultivées sur mélasse et dans seconde cas, elles sont cultivées sur divers sous-produits agricoles (lactosérum, vinasse...) qui sont enrichis en protéines et sont alors incorporés aux aliments de bétail (métabolisme oxydatif favorisé) (TIBOR., 2007).

II.9.6. Production des alcools industriels

Depuis quelques temps, une nouvelle utilisation des levures est apparue. Les levures, essentiellement des souches du genre *Saccharomyces*, grâce à leur haute capacité fermentaire, peuvent assurer la bioconversion de nombreux substrats saccharoses (jus de betteraves, sirop, mélasse de sucrerie) en bioéthanol (LEVEAU., BOUIX., 1993 et TIBOR., 2007).

Tableau 05: Utilisation des levures et de leurs produits.

(LAMMI., 2011)

Utilisations	Quelques exemples
Production de levures	Levure de boulanger (fabrication du pain) Levure sèche (supplément nutritionnel humain et animal)
Produits des levures	Extrait de levure (milieux de culture de microorganismes) Vitamines B et D. Enzymes: invertase, galactosidase, amylase (Industrie agroalimentaire). Produits chimiques pour la recherche : ATP, NAD ⁺ , ARN.
Produits de fermentation de Levure	Ethanol (chimique, industriel, carburant), Glycérol.

CH III:

Le sirop de datte

III.1. La datte

III.1.1. Définition

Ces fruits sont des baies de forme ovale de 3 cm de long (SBIAL., 2011). Et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés (DJERBI., 1994). La couleur de datte dépend de la variété et va du jaune au presque noir en passant par toute la gamme des bruns (TONELLI., GALLOUIN., 2013). La datte est riche en élément minéraux et vitamine (GILLES., 2000). Elle est composée d'un noyau, ayant une consistance dure, entouré de chair (Figure 1).

La partie comestible dite chair ou pulpe est constituée de :

- Un péricarpe ou enveloppe cellulosique fine dénommée peau.
- Un mésocarpe généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucre et de couleur soutenue.
- Un endocarpe de teinte plus clair et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau (ESPIARD., 2002).

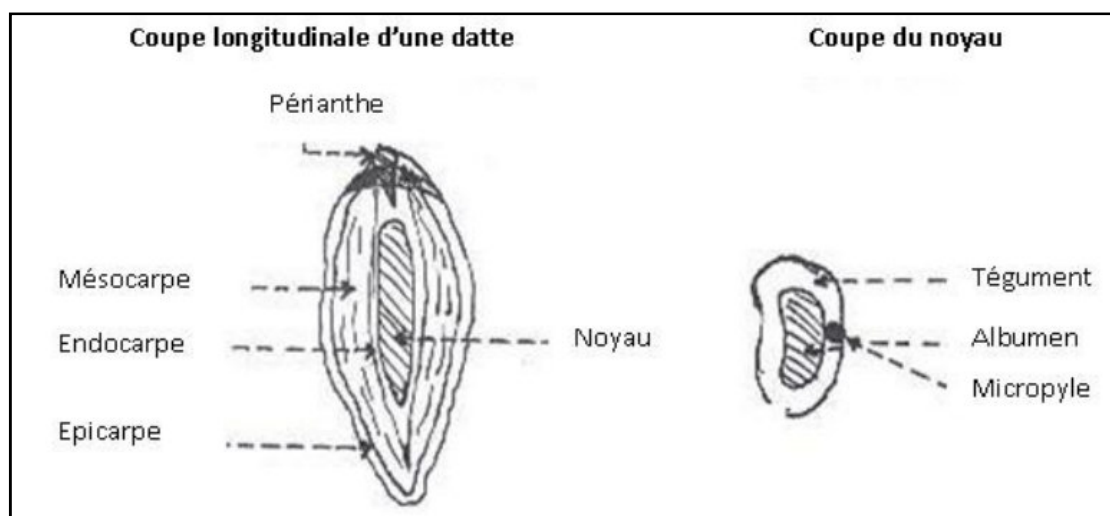


Figure 8 : Datte et noyau du palmier dattier d'après (BELGUEDJ., 2001).

III.1.2. Les variétés de dattes

En Algérie les principales cultivars sont représentées par (AICHA DJIDEL., 2007).

III.1.2.1. La Deglet-Nour

Variété commerciale par excellence. C'est des dattes demi- molle, considérée comme étant la meilleure variété de dattes du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur (BENHARZALLAH H., BOUHOUREIRA., 2014).

III.1.2.2. Les dattes communes

Ces variétés sont de moindre importance économique par rapport à Deglet-Nour. Les variétés les plus répandues sont : Ghars, Degla-Beïda et Mech-Degla. Une grande proportion des variétés communes est de consistance molle (BACHA., 2008).

III.1.2.3. Les variétés secondaires

Elles comptent plus de 150 variétés dont la majorité est très peu appréciée. les plus répandues sont : Hmra, Tinnaceur, Tegaza, Teezerzait, et takerbouchet (qui présent un intérêt par sa résistance au bayoudh) (DJIDEL., 2007).

III.1.3. Classification des dattes

D'après (ESPIARD., 2002), la consistance de datte est variable. Selon cette caractéristique, les dattes sont réparties en trois catégories :

- **dattes molles** : le taux d'humidité supérieur ou égal à 30%, elles sont à base de sucre (fructose, glucose): ghars, Ahmar (mauritanie), kashram et Miskain (egypte, arabie-sapudite).
- **dattes demi-molles** : de 20 à 30% d'humidité, à base de saccharose par excellence: deglet nour (Tunisie, Algérie), Mehjoul (Mauritanie), sifri et zahidi (Arabie-saoudite).
- **dattes sèches de consistance dure** : moins de 20% d'humidité, riche en saccharose: degla-beïda et mech-degla (tunisie et algérie), amersi (Mauritanie) (ABSI., 2013).

III.1.4. Composition chimique de la datte

La datte est constituée d'une partie charnue, la chair ou la pulpe et d'un noyau. C'est un fruit de grande valeur alimentaire et très énergétique, elle fournit des calories 4 à 5 fois supérieure à celles fournies par d'autres fruits (MUNIER., 1973).

III.1.4.1. Principaux constituants de la pulpe

La pulpe de la datte mûre est composée de sucres, d'eau, d'éléments minéraux et de produits divers : protides, lipides, pectines, tanins, vitamines, produits aromatiques...etc (MIMOUNI., 2009).

❖ L'eau

Selon les variétés, le stade de maturation et le climat, la teneur en eau des dattes varie entre 8% et plus de 30 % du poids de la chair fraîche avec une moyenne d'environ 19 % (NOUL., 2007). D'après (MUNIER.,1973), les dattes à consistance molle ont une teneur en humidité supérieure à 30%. Par contre, les dattes sèches ont une teneur en humidité inférieure à 20% et les dattes de consistance molle de 20 à 30%.

❖ **Les glucides**

La teneur en sucres totaux est très variable, elle dépend de la variété, du stade de développement et du climat. Elle varie entre 60 et 95 % du poids de la pulpe fraîche (SIBOUKEUR, 1997). Les sucres sont les constituants majeurs des dattes. On note la présence majoritaire de trois types de sucres: le saccharose, le glucose et le fructose (AL FARSI et al., 2008) (tableau :1).

Tableau 6 : Teneur moyenne de la date en sucres.

(AL FARSI., LEE., 2008).

Sucres (g/100g)	Minimum	Maximum
Glucose	17.6	41.4
Fructose	13.6	36.8
Saccharose	0.5	33.9

❖ **Les protéines**

La teneur en protéines varie selon le stade de maturation, les dattes contiennent entre 1% et 3% et contiennent des acides aminés indispensables mais en petites quantités pour couvrir les besoins de l'homme (DJIDEL., 2007).

❖ **Les lipides**

Les dattes renferment une faible quantité de lipides. Leur taux varie entre 0,43% et 7,5 % du poids frais qui se concentre dans l'épicarpe (DJOUAB., 2007).

❖ **Les éléments 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. La dattes est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux essentiellement le potassium, le magnésium, le phosphore et le calcium.

❖ **Les vitamines**

Le tableau ci-dessous, donne la teneur en vitamines moyenne des dattes selon (FAVIER et al., 1993).

Tableau 7 : Composition vitaminique moyenne de la datte sèche.

(FAVIER et al., 1993)

Vitamines	Teneur moyenne pour 100g
Vitamine C	2.00mg
Thiamine (B1)	0.06mg
Riboflavine(B2)	0.10mg
Niacine (B3)	1.70mg
Acide pantothénique (B5)	0.80mg
Vitamine (B6)	0.15mg
Folates (B9)	28.00mg

III.1.4.2. Principaux constituants du noyau

Le noyau de dattes représente 7 à 30% de poids des dattes. Il est constitué d'un albumen protégé par une enveloppe cellulosique (ESPIARD., 2002). Le tableau ci-dessous montre la composition biochimique des noyaux des dattes Irakiennes (AMELLAL CHIBANE., 2008).

Tableau 8 : Composition biochimique des noyaux des dattes Irakiennes.

(AMELLAL CHIBANE., 2008)

Constituants	Teneur en %
Eau	6.46
Glucides	62.51
Protides	5.22
Lipides	8.49
Cellulose	16.20
Cendres	1.12

III.1.5. La transformation

Sirop de dattes, boissons, vinaigre de bouche, vinaigre industriel, alcool chirurgical ou industriel et levures (DOLLE., TOUTAIN., 1990).

III.2. Le sirop de datte

III.2.1. Définition

Les dattes de qualité secondaire, trop molles ou écrasées, peuvent être utilisées pour la fabrication de sirops (BENJAMAIN *et al.*, 1985). Elles sont découpées puis chauffées dans l'eau pour obtenir un sirop riche qui peut être filtré et concentré sous vide jusqu'à l'obtention d'un produit concentré à 65-70% de matière sèche. Le sirop de datte se caractérise par un goût de datte, leur marché dépend de la tolérance et de la demande du goût par les consommateurs dans les produits sucrés et les boissons (ULRICH M., 2013).

III.2.2. Composition biochimique du sirop de dattes

En général, la composition biochimique du sirop de dattes se résume comme suit : une teneur en eau de 25% du poids frais et une teneur élevée en sucres totaux qui représente 96% dont la majorité est sous forme de sucres réducteurs, les éléments minéraux et les protéines sont présents en faibles quantités (ABDELFATTAH., 1990). Selon (EL-OGAIDI., 2000), le pH de sirop est compris entre 6 et 6,5. En outre, le sirop de dattes a un degré Brix compris entre 73 à 75 % ce qui permet sa conservation au-delà de deux ans, sans risque d'altération (tableau 4).

Tableau 9 : Compositions biochimiques de sirop de datte.

(BENHARZALLAH et BOUHOUREIRA., 2014).

Composants	Valeur
Teneur en eau	16(%)
Cendres	6.8(%)
Solides totaux sur le poids sec	84.0(%)
Sucre totaux	79.45(%)
Sucre réducteur	4.87(%)
Sucre inverti	74.83(%)
Protéines totales (en tant que N)	0.83(%)
Lipides totaux	1.98(%)
Contenu de vit C	0.185(mg/100g)
Minéraux (mg/100g)	
Sodium	13
Potassium	202.8
Fer	7.8
Magnésium	143
Calcium	338

III.2.3. Propriétés du sirop de dattes

Ce sirop est obtenu à l'état naturel, comme le sucre, de canne ou de betterave, d'amidon de blé, de pomme de terre, après des transformations plus ou moins importantes (GUERIN *et al.*, 1982).

III.2.3.1. Propriétés organoleptiques du sirop

- **Goût**

L'intensité du goût sucré diffère considérablement d'un édulcorant à un autre, même au sein de la famille des glucides.

La plupart des édulcorants à haut pouvoir sucrant possèdent des arrière-goûts qui se superposent au goût sucré et résulte d'impuretés qui sont parfois indéfinissables au point de ne pas se ranger parmi les trois goûts fondamentaux (salé, acide, ou amer) (MULTON *et LEPATRE.*, 1984).

- **Couleur**

Le sirop de dattes est un produit stable d'une couleur plus ou moins brune. Dans des flacons transparents, il peut prendre une couleur noir rougeâtre (ABDELFATTAH., 1990).

III.2.3.2. Propriétés physiques du sirop

- **Densité**

La densité moyenne d'un sirop est fonction de leur concentration. Cette dernière est inversement proportionnelle à la température ambiante (GUERIN *et al.*, 1982). La densité de sirop de dattes est très élevée grâce au taux de solides solubles existant dans ce produit, ce caractère permet leur stockage pendant une longue durée (ABDELFATTAH., 1990).

- **Viscosité**

Le sirop de 72 à 75% de teneur en matières sèches, à une viscosité de 500 centipoises (GUERIN *et al.*, 1982). Selon (ABDELFATTAH., 1990), le sirop de dattes est un produit très visqueux, ceci est dû à la faible humidité. Cette propriété est importante pour préserver la qualité du produit durant deux ans et empêche la prolifération des microorganismes.

III.2.3.3. Aspects bactériologiques

Le développement des microorganismes est lié à l'activité de l'eau et au couple pH/température de milieu (MULTON., 1992).

- **Stabilité**

La majorité des édulcorants à haut pouvoir sucrant sont des molécules complexes, sensibles aux variations de certains paramètres liés à la composition du produit alimentaire (humidité, pH, sels etc.) et aux conditions de fabrication (température, temps, exposition à la lumière, etc.). Si la modification stéréochimique de la molécule porte sur le "site sucré", cela se traduira par un changement ou une disparition du pouvoir sucrant (**MULTON., LEPATRE., 1984**).

- **Toxicité**

Selon (**EL-OGAIDI., 2000**), le sirop de dattes est un sucre inverti naturellement, ce dernier est dépourvu des substances étrangères. La toxicité n'a donc pas lieu lors de la fabrication par le procédé préconisé (pressurage, extraction à haute et basse température)

III.2.4. Utilisations de sirop da dattes

Le sirop de dattes est fréquemment utilisé dans les Biscuits et les produits laitiers (boissons, yaourts, desserts, etc), produits à base de céréales (barres et petit-déjeuner), confiserie, préparation de fruits, glaces, boulangerie, snacks, substituts du saccharose et du miel pour les consommateurs...etc (**BENHARZALLAH., BOUHOUREIRA., 2014**).

Partie expérimentale

Matériel
et
Méthodes

I. Matériel et méthodes**I.1. Matériels végétaux**

Dans ce travail, on a utilisé deux matériels végétaux prélevés à partir de la même région El-Oued. Premièrement, les dattes (récolté en octobre 2014) ont été utilisés pour servir à la préparation de milieu de culture et le deuxième le blé dur (*Triticum durum*) utilisé pour l'isolement des souches désirées, Le blé a été récolté en juin 2014.

I.1.1. Choix du matériel végétal

Les rebuts de dattes produits par la variété Ghars, d'une part, ont été choisis généralement en raison de leur disponibilité en quantités importantes dans la région, et d'autre part, de leur faible valeur marchande. Les dattes ont été triées pour obtenir un lot homogène avant de les laver et peser pour préparer leur sirop, qui sera utilisé comme milieu de culture de base pour la production d' α -amylase (MIMOUNI., 2009).

Le choix du blé dur en tant que support d'isolement des levures est justifié par sa disponibilité en quantité importante dans la région d'El-Oued et par la richesse en éléments nutritifs permettant l'implantation de la flore fongique (BELYAGOUBI., 2006).

I.2. Etude de la composition chimique de farine de blé dur (*Triticum durum*)

Les analyses effectuées ont porté sur les grains d'échantillons du blé dur récoltés en 2014. Nos échantillons ont été broyés à sec dans un broyeur et destinés pour la réalisation des analyses physico-chimiques. Ils ont été mis dans des sachets hermétiques et conservés au laboratoire à température ambiante. Les analyses ont été réalisées au niveau de l'Institut national de la recherche agronomique algérien (INRAA) sidi Mehdi Touggourt, Ouargla.

I.2.1. Détermination d'humidité

La teneur en eau est la perte de masse exprimée en pourcentage effectuée pendant 2h, dans une étuve réglée à 130- 133 °C à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'un poids constants (BENHANIA., 2013).

I.2.2. Taux de cendre

Mettre le produit à analyser, dans un four à moufle à 900 °C $\pm$ 25 °C pendant 2 heures jusqu'à ce qu'il reste un résidu incombustible, une fois refroidi un aspect blanc apparaitre (BENHANIA., 2013).

I.2.3. Mesure de pH

Etalonner l'appareil avec des solutions tampons (pH de 7 et 4). Peser dans un bécher, environ 10 g d'échantillon frais, ajouter 100 ml d'eau déminéralisée et garder une agitation mécanique pendant 05 minutes pour homogénéiser le mélange. Plonger les électrodes du pH-mètre dans le bécher et faire la lecture lorsque l'afficheur est stable (**DOUKANI et al., 2013**).

I.2.3. Dosage des sucres totaux

Les sucres totaux sont déterminés selon la méthode de **DUBOIS et al (1956)** dont le principe repose sur la réaction suivante : l'acide sulfurique concentré provoque, à chaud, le départ de plusieurs molécules d'eau à partir des oses. Cette déshydratation s'accompagne par la formation d'un hydroxy-méthylfurfural (HMF) dans le cas d'hexose et d'un furfural dans le cas d'un pentose. Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés (jaune-orangé). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des oses. La densité optique est mesurée à 488 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Annexe 2).

I.2.4. Dosage des sucres réducteurs

Par la méthode de Bertrand, rapporté par le principe de cette méthode consiste faire agir un excès de liqueur cuproalcaline dans des conditions bien fixées puis on sépare l'oxyde cuivreux et on le traite par une liqueur sulfurique de sulfate ferrique (**ACOURENE et TAMA., 2001**).

I.2.6. Dosage des protéines

Le dosage des protéines est réalisé par la détermination de l'azote total selon méthode Kjeldhal, Le principe consiste en une minéralisation à chaud de la matière organique par l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur, une alcalinisation des produits de la réaction (sulfate d'ammonium) par la lessive de soude concentrée, une fixation de l'ammoniac entraîné par la vapeur par l'acide borique et une titration par l'acide sulfurique (**BENKARA MOSTEFA., 2006**).

I.3. Isolement et ensemencement des levures à partir du blé dur (*Triticum durum*)

Toute levure isolée à partir de blé dur (*Triticum durum*) et possédant un pouvoir amylolytiques importantes, représente le microorganisme cible destiné pour la réalisation de la suite de ce travail.

I.3.1. Méthodes d'isolement et d'ensemencement

Pour l'isolement des levures à partir de blé dur, on suit la méthode de dilution (ou méthode indirecte) par (MULTON., 1982), qui consiste à dénombrer les microorganismes des grains de céréales du blé dur.

On prépare deux solution mère (SM), la première solution mère consiste en suspension de 5 g de farine de blé dure avec 45 ml d'eau physiologique (le diluant), mais la deuxième solution mère on ajoute quelques gouttes de Tween 80°.

Des dilutions décimales sont réalisées pour chaque sous échantillon de blé dur local (10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}) (figure9). Deux boites pour chaque dilution sont ensemencées d'inoculum en surface par étalement de 0.1ml de culture en stries transversales. On utilise un milieu de Sabouraud pour isoler les levures (**HAMMER et *al.*, 1998**) et on incube à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 3 à 5 jours.

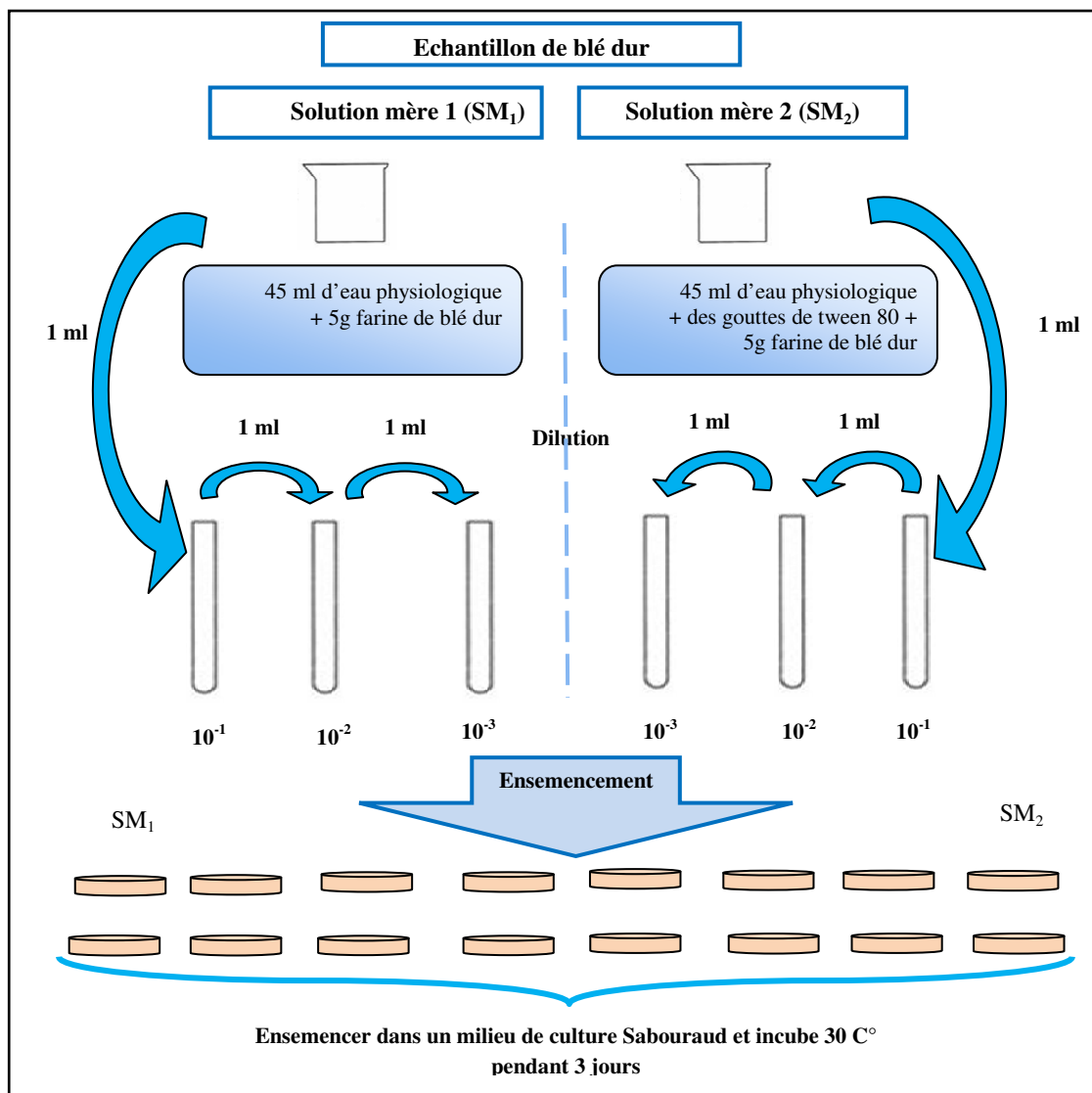


Figure 9: Techniques d'isolement et de dénombrement des souches fongiques.

I.3.2. Purification des souches levuriennes

En vue de l'obtention d'isolats purs servant à l'identification des souches, plusieurs repiquages successifs doivent se faire.

Selon l'observation macroscopique des colonies (forme ronde ou fissionne, gonflée ou ablatée) et leur couleur, et aussi, après l'observation microscopique. Ces colonies ont repiqué sur le milieu PDA (Annexe 1) et incubé à 30°C pendant 5 jours après dilutions dans 1ml de l'eau physiologie.

A la fin de l'incubation ; une autres observation macroscopique et microscopique des colonies après la coloration par bleu de méthylène ; a été faites. Les boîtes des pétris qui contiennent les moisissures sont éliminés puis on réalise le deuxième repiquage sur PDA (Annexe 1) à pH 5, additionné d'amidon soluble à 1%. (figure10). Les isolats purs sont repris et conservés sur le milieu PDA inclinés et incubés à 30°C pendant 5jour pour une utilisation ultérieure.

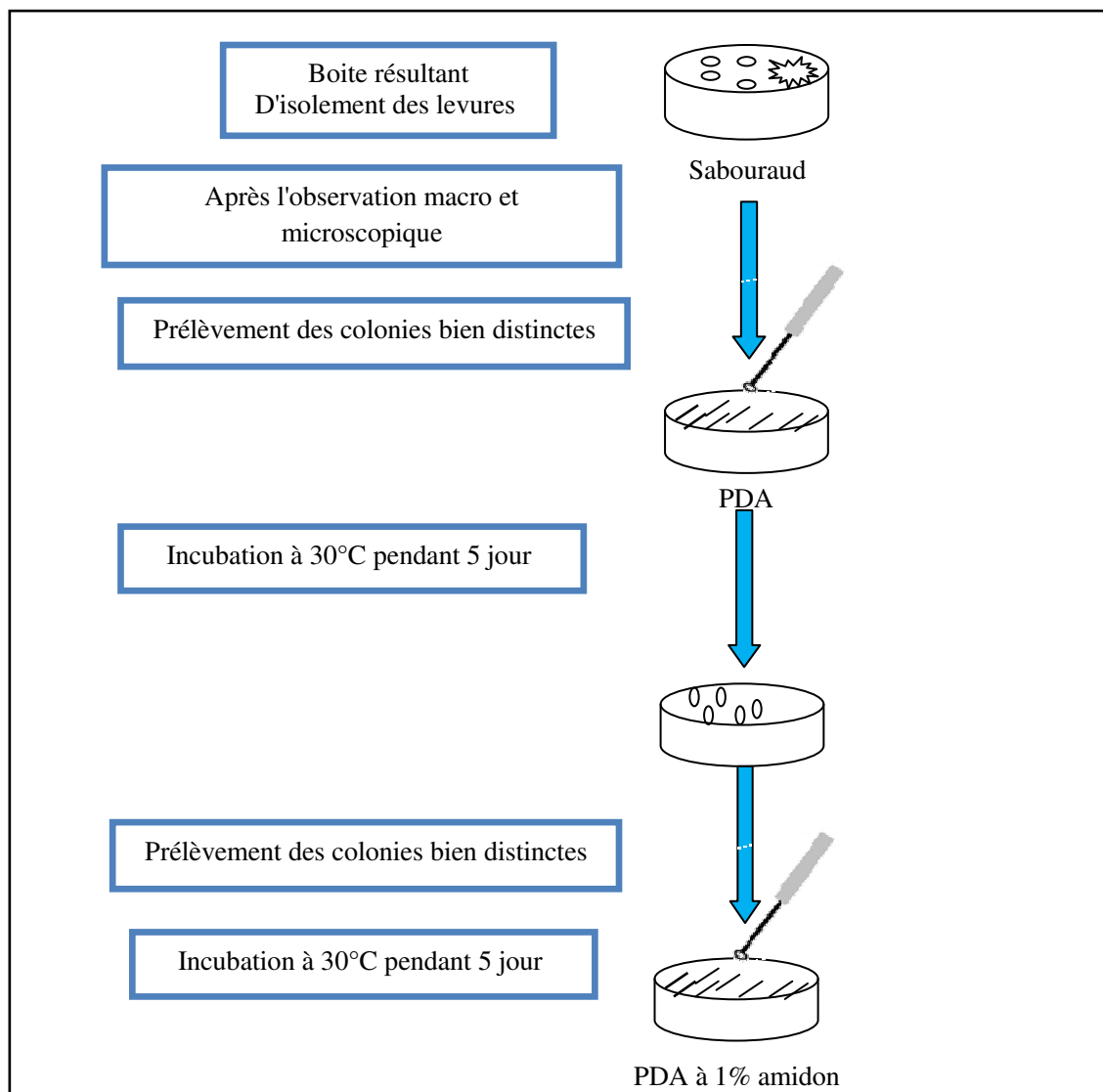


Figure 10: les étapes de purification des levures.

I.3. 3. Sélection des souches levuriennes amylolytiques

La recherche de souches amylolytiques est réalisée sur les souches précédemment isolées, selon la méthode décrite par **TATSINKOU., COLLABORATEURS (2005)**. La sélection est effectuée sur milieu PDA (Annexe 1) à pH 5, additionné d'amidon soluble à 1%. Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 5j. Après incubation, une solution de lugol est vaporisée sur la surface de la boîte, afin de mettre en évidence l'activité amylasique. Les souches à halo clair sur le pourtour, sont considérées comme productrices d'amylases. Le diamètre des zones de lyse, est pris en considération pour la sélection de la souche amylolytiques la plus performante.

I.3.4. Conservation

La méthode de conservation des souches la plus utilisée et la plus simple consiste à repiquer les souches en tube sur gélose inclinée PDA (Annexe 1), les cultures sont incubées pendant 3 à 5 jours à 30 C°, pour permettre une croissance maximale, puis elles sont stockées à 4°C pour favoriser leur viabilité et limiter les possibilités de variations (**LAGZOULI et al., 2007**).

I.4. Elaboration du sirop de datte

De procéder à l'extraction, nous avons effectué un triage, un lavage à l'eau du robinet suivi d'un ressuyage des dattes. La méthode d'extraction adoptée est la diffusion dans l'eau maintenue à de température de 80⁰C. L'échantillon de dattes est additionné du double de son poids en volume d'eau distillée (**MIMOUNI., SIBOUKEUR., 2011**).

Le jus extrait sera filtré à travers un tissu et on le stérilise à 120 °C pendant 20 mn (**ACOURENE et M. T., 2001**) (figure11).

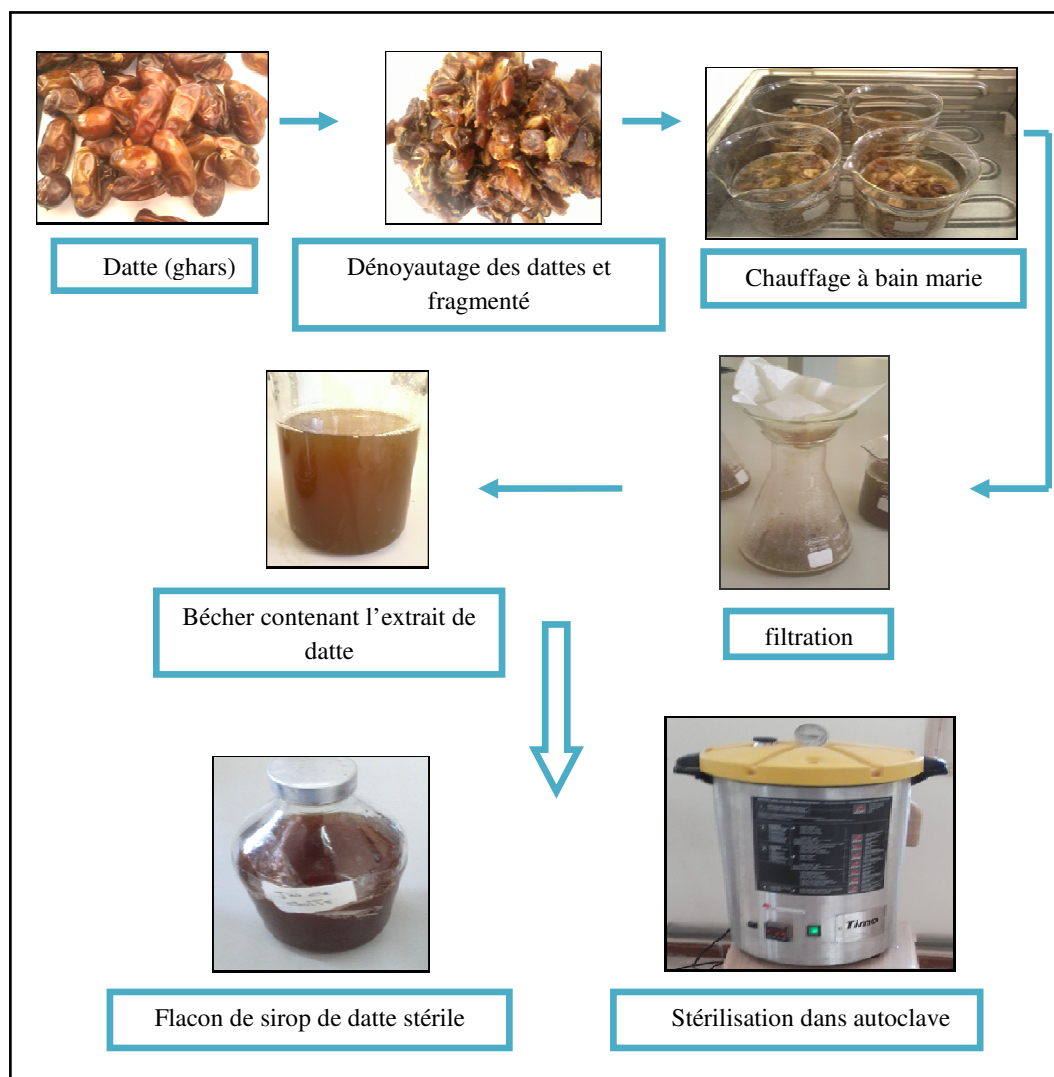


Figure 11: Processus de préparation et filtration du sirop de datte (photo originale).

I.5. Analyses physico-chimiques de sirop de datte

Toutes les analyses du sirop de datte ont été effectuées au niveau de l'institut national de la recherche agronomique algérien (INRAA) sidi Mehdi Touggourt, Ouargla. On a mesuré le paramètre physico-chimique de sirop de datte par même méthode utilisée dans le blé dur.

I.6. Production de l'enzyme

Les souches levurières productrices d' α amylase sélectionnées ; seront cultivées dans un milieu à base du sirop de datte en vue de la suivie de leurs croissance et de la production de cette enzyme.

I.6.1. Préparation de milieu enrichi

Vu à la faible teneur de la datte en éléments nutritifs, essentiellement en protéines et en sels minéraux pour favoriser la multiplication des micro-organismes, Le milieu a été enrichi avec les sels suivants dans les proportions indiquées :

Sulfate de magnésiumMg SO₄ (0,15g/l) ;

Phosphate daïmoniqueKH₂PO₄ (0,3 g/l) ;

Ammoniaque (1 ml) (REFICE., et al., 2011).

Le pH est ajusté à 5 par une solution d'acide sulfurique et on ajouté 10g/l d'amidon comme inducteur (substrat enzymatique).

I.6.2. Préparation de l'inoculum

Nous préparons l'inoculum à partir des souches de levures conservées dans des tubes inclinés au réfrigérateur à une température de 4°C; où nous repiquons ces souches à l'aide d'une anse stérile et ensemençons dans les tubes contenant 10 ml d'eau physiologique. Puis on mit à incuber à 30°C.

I.7. Cinétique de production de l' α -amylase.

Les cultures sont réalisées dans des flacons à vis de 250 ml à raison de 50 ml par flacon, puis stérilisées à 120°C pendant 20 min. Les milieux sont ensemencés par un 1ml de suspension de cellules. Les flacons sont incubés à 30°C dans une étuve pendant 72 h. Les paramètres suivants sont mesurés :

- PH
- biomasse.
- activité α -amylasique.

I.7.1. Mesure du pH

Le pH de l'extrait enzymatique est mesuré à l'aide d'un pH- mètre.

I.7.2. Séparation de la biomasse

Pendant de l'incubation, la biomasse est séparée par filtration sur papier Wattman N°2. Le poids sec est déterminé après rinçage à l'eau distillé et séchage dans une étuve réglé à 105°C jusqu'à poids constant (annexe 5).

I.7.3. Dosage de l'activité α -amylasique

A 1ml de l'extrait enzymatique tamponnée à pH 7 avec du tampon phosphate 0.1M sont ajoutés 1 ml de substrat (solution d'amidon 2g/l). Le mélange est incubé à 50 pendant 30 min. La réaction est arrêtée par addition de 0,5 HCl suivie de 2,5 ml du réactif de l'iode (Annexe 3). L'absorbance est lue à 580 nm contre le blanc (préparé à partir de l'extrait enzymatique dénaturé à 100°C (SACI., 2012).

I.9. Etude de l'optimisation de production d' α -amylase

Dans le but d'optimiser les conditions de culture des levures et de la production de l' α -amylase, on a procédé à la modification de certains paramètres physico chimiques du milieu de culture.

I.9.1. Effet du pH

Le PH est un paramètre à une influence importante sur la meilleure production d' α -amylase à partir des levures. Donc, Pour dans cet objectif, nous varions le PH dans notre expérience de façon suivant:

- PH 4 nous utilisant acide sulfurique.
- PH 7 et 8 nous utilisant NaOH (1N).

I.9.2. Effet de concentration de l'amidon

Aussi, les levures ont besoin des sources de carbone à partir de l'amidon. Pour cela, on utilise des différentes concentrations de l'amidon dans le milieu de culture (15g/l, 20g/l, 25g/l).

Résultats
et
Discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Etude de la composition physicochimique de la farine de blé dur (*Triticum durum*)

Durant cette première partie, l'étude est portée sur le contrôle (quantitatif) du blé dur. A cet effet, les analyses effectuées visent à préciser l'aspect physicochimique du blé dur utilisé.

Les caractéristiques physicochimiques et biochimiques du blé dur utilisé comme source d'isolement des levures sont présentées dans le tableau 10.

Tableau 10: Compositions physicochimique et biochimiques du blé dur (*Triticum durum*).

Paramètres mesurés	Valeur obtenue
Humidité	10.1(%)
Cendre	2.9(%)
PH	6.91
Protéines	1.75(%) MS
Sucres totaux	9.9(%) MS
Sucres réducteurs	8.38(%) MS

II.1.1. Humidité

D'après ces résultats, le taux d'humidité du blé dur est de l'ordre de 10.1 %, cette valeur est proche à celle citée par **DOUKANI et al (2013)** et **ZOUAOUI (2012)** qui est de 10.73 % et 10.45.

La variation de teneur en eau peut d'être due aux: différences des espèces, stade de maturation, différentes conditions pédoclimatique et la répartition géographique (**MOKHATARI., 2013**).

Certaines espèces fongiques forment des structures de survie qui les protègent allant de simples cellules produites par reproduction asexuée «spores». Elles sont capables de survivre des conditions extrêmes sur les feuilles, les semences ou encore dans le sol. (**BAHOUS et al., 2008**).

II. 1. 2. Taux de cendres

Le résultat du taux de cendre du blé dur est de 2 %. Cette valeur se situe dans l'intervalle (1.5-2.5 %) cité par **DOUKANI et al (2013)**. Mais supérieure à celle citée par **MOKHATARI (2013)** qui est de 1.42 %.

On peut comparer le taux de cendre de graine de blé dur avec autre type de céréale comme le riz et l'orge. Selon **BENKADRI (2010)** et **BENAHMED (2011)**, le résultat est 0.51% et 1.93 respectivement. Cette valeur explique la richesse de blé dur en éléments minéraux par rapport d'autres types de céréales.

II. 1. 3. Le pH

D'après les résultats obtenus de échantillon, on constate que la mesure du pH du blé dur révèle un pH légèrement acide à neutre de 6.91, ce résultat est similaire à celui trouvé par **DOUKANI et al (2013)** qui est proche de la neutralité qui est de 6.5 mais aussi supérieur que celle cité par **MOKHATARI (2013)** avec 5.21.

Les champignons peuvent se développer à des pH compris entre 3 et 8 avec un optimum de croissance compris entre 5 et 6, de ce fait, nos échantillons constituent un milieu favorable pour le développement des champignons (**GACEM et al., 2011**).

II. 1. 4. Teneur en protéines

Selon ce tableau, le résultat du taux de protéines du blé dur est de 1.75%. Cette valeur est inférieure que celle cité par **DOUKANI et al (2013)** et **BARKOUTI (2012)** qui est de 17.17 % et 12.4%.

La teneur de protéine de grain de blé est influencée par plusieurs facteurs La variété, la fertilisation de terre en azote, du climat et aussi par la durée et le type de stockage (**MOKHATARI., 2013**).

II.1. 5. Le taux de sucres

Le taux de sucres totaux du blé dur est de 9.9%. Cette valeur est légèrement inférieure par rapport aux résultats des recherches réalisés par **DOUKANI et al (2013)** qui a mentionné des valeurs de 71.12 %. Et pour le sucre réducteur de blé dur renferme un taux de 8.38% (tableau n°10). Cette valeur est supérieur cité par **DOUKANI et al (2013)** qui est de 1.11%.

D'après ces analyses, notre échantillon de blé dur comporte des quantités suffisance de sucre, de protéine, de sels minéraux qui le qualifie comme support pour de développement les levures et survivre.

II. 2. Isolement des souches levuriennes

Dans les travaux de **BELYAGOUBI (2006)** sur la flore fongique de nombreuses céréales (orge, blé, maïs et riz), ils ont abouti à l'isolement des souches levuriennes, cela nous renseigne sur la contamination fréquente des céréales.

L'isolement des levures à partir des échantillons de blé dur étalés sur le milieu Sabouraud et PDA a permis l'obtention de nombreux souches levuriennes. L'aspect macroscopique des colonies isolées est présenté dans la figure suivante :

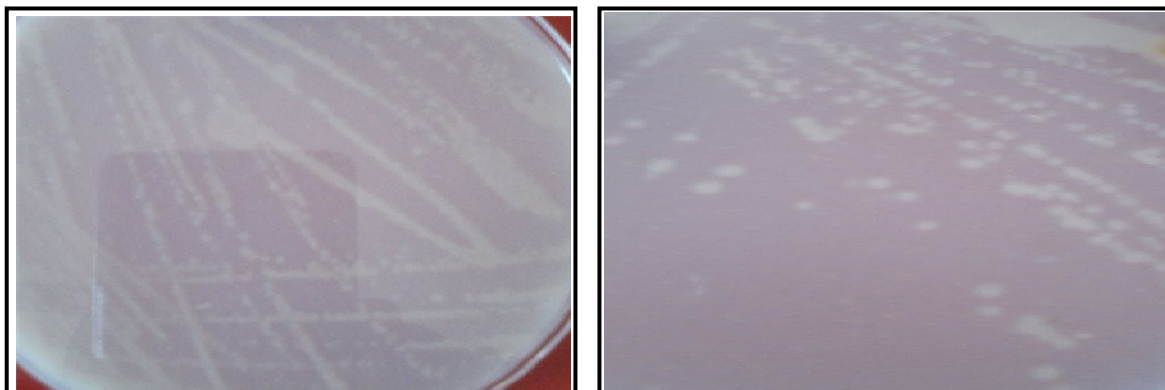


Figure 12: Aspect macroscopique des souches levuriennes isolées (après 72 h d'incubation).

Les colonies obtenues après l'incubation ; peuvent avoir les aspects macroscopique suivants :

- La forme des colonies: isolées, enchainement, en amas, gonflé et aplaté.
- La couleur de colonies est crémeuse, grise et blanche.
- L'odeur est ressentie dans quelques colonies.

L'examen microscopique des souches de levures prélevées des différentes colonies, laisse apparaître des levures de forme ronde ou ovoïde. Elles se groupent en amas, mais aussi en chaînette ou en paires sous forme de bourgeonnement. De même les levures se présentent sous forme isolées comme la montre la figure13.

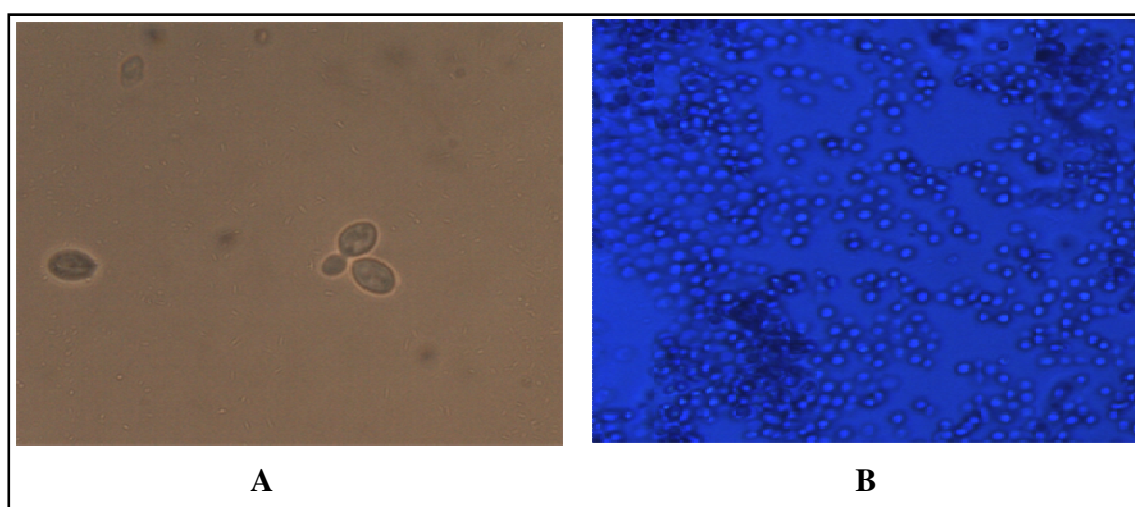


Figure 13 : l'aspect microscopique des souches

A: Grossissement x100, **B:** Bleu méthylène (Grossissement x40).

II.3. Sélection de souches amylolytiques

Parmi les souches levuriennes isolées, nous devons sélectionner les souches les plus performantes, pour la production de l' α -amylase. Ces souches, sont testées sur milieu PDA à 1% d'amidon. Après l'incubation (à 30°C pendant 72 h), nous observons des zones de lyse de différentes dimensions. Les deux souches (S1 et S2) ont des zones de lyse légèrement réduites alors que les quatre autres souches (S3, S4, S5 et S6) présentent des zones de lyse plus large. Ces six souches se distinguent par une activité amylolytique considérables (Figures:14).

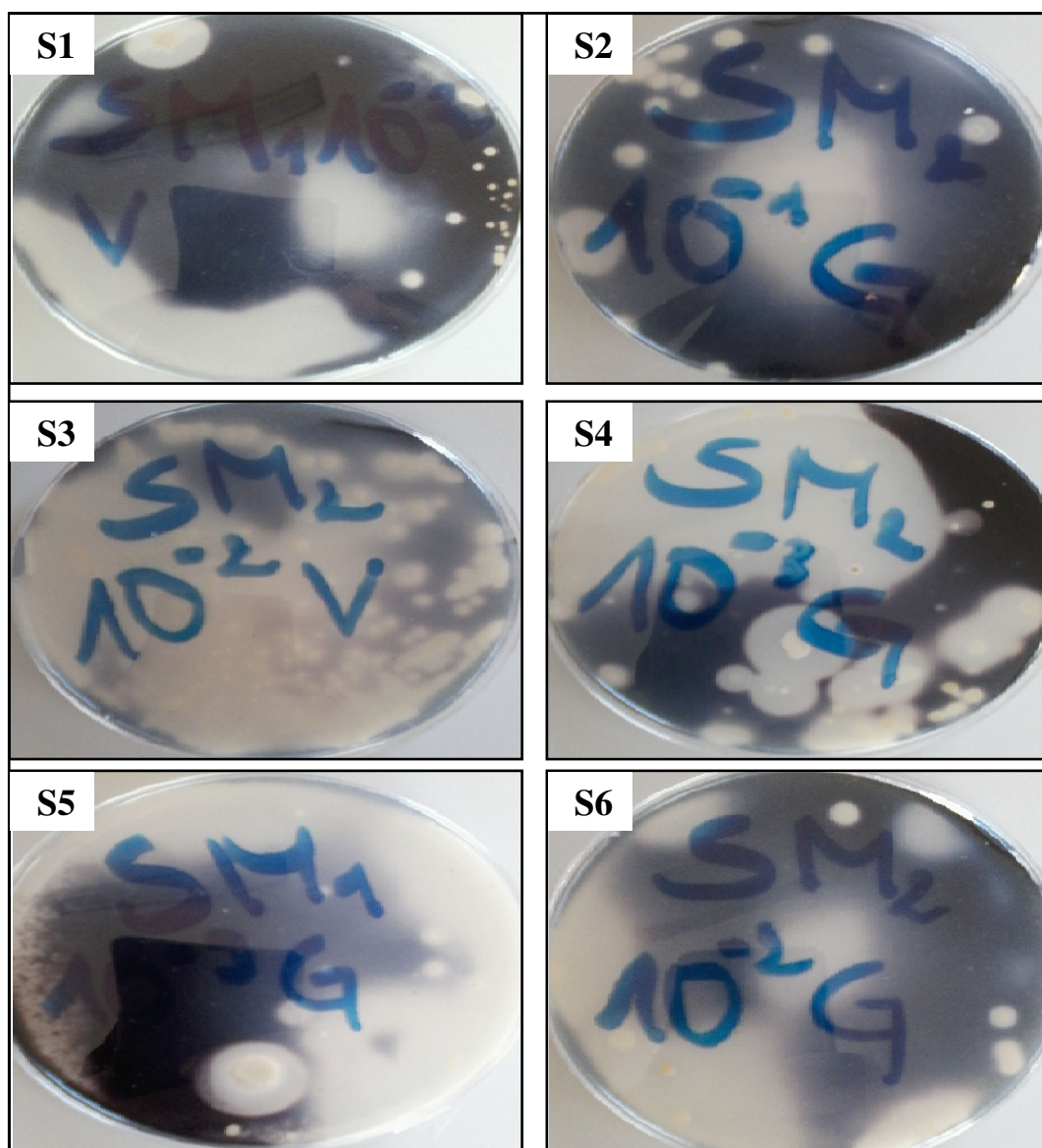


Figure 14 : Test de sélection de souches amylolytiques : Développement des zones de lyse pour les souches S1, S2, S3, S4, S5 et S6, après 72 h d'incubation.

II.4. Composition chimique du sirop de datte

Les caractéristiques physicochimiques du sirop de datte utilisé comme milieu de base pour la culture des levures durant cette étude ; sont présentées dans le tableau 11.

Tableau 11 : Caractéristiques physicochimiques du sirop de datte.

Paramètre	Valeur
Humidité	77.09 (%)
Cendre	2 (%)
PH	5.68
Sucres totaux	30.53 (%) MS
Sucres réducteurs	19.17 (%) MS
Glucose	12.7 (%) MS

II.4.1. Humidité

La teneur de l'humidité de sirop de datte utilisée dans notre expérience est de 77.09%. Ces résultats sont légèrement inférieurs à ceux rapportés par **BENCHABANE (2012)** et **BOUHADI (2013)**, à savoir des valeurs de 89.43% et de 88.96% respectivement.

II.4.2. Taux de cendres

Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon (**BENAHMED DILAL et al., 2011**). Le taux de cendre de sirop de datte utilisée dans notre expérience est de 2%. Elle est présente dans la fourchette donnée par **MIMOUNI**

et SIBOUKEUR (2011) ; à savoir : 1.50 à 3.50% pour le sirop de datte, aussi ces résultats sont supérieurs à ceux rapporté par **BENHMED DJILALI (2012)** avec de valeur 1.29%.

On peut comparer le taux de cendre de jus de datte avec autre type de jus comme tomate ou fruit de Lendj selon **DOSSOU et al (2007)** et **DOUKANI., TABAK., (2015)**, le résultat de taux de cendre est 1,85% et 0.69% respectivement. Donc ceci peut expliquer la richesse de sirop de datte de la variété ghars en éléments minéraux (**SIBOUKEUR ., 2001**).

II.4.3. Le pH

Le pH de sirop de datte est légèrement acide, il est de 5.68. Cette valeur se situe dans l'intervalle cité par **BENCHABANE et al (2012)**, avec de valeur de (5.8 à 6.2). Aussi notre résultat est plus proche que la valeur de **BOUHADI (2013)** avec 5.9.

Le pH de l'ordre de 3 à 6 est très favorable au développement des levures et moisissures (**DJOUDI., 2013**). Il peut donc favoriser la multiplication des levures et des moisissures et parallèlement freine le développement des bactéries à l'exception des acidophiles (**BACHA., 2008**).

II.4.4. Teneur des Sucres

La teneur en sucres totaux de sirop de datte est égale à 30.53%. Ce résultat est inférieur à celui rapporté par **MIMOUNI et SIBOUKEUR (2011)** qui préconisent des teneurs de sucres totaux de 70.63%. De même il est supérieur à celui rapporté par **SIBOUKEUR (2001)** avec valeur 16.64%.

La proportion des sucres réducteurs de sirop de dattes est égale 19.17%, il est nettement inférieure à celle donnée par **MIMOUNI Y et al (2014)** et **BENCHABANE (2012)** avec de valeur: 79.96% et 36.9 % respectivement.

Le pourcentage de glucose de sirop de datte utilisée dans notre expérience est de 12.7%. Ces valeurs semblent être inférieures de celles citées par **MIMOUNI (2009)** avec de valeur 28.86 %. Notre échantillon de sirops de datte comporte une quantité considérable de sucre, donc, d'où la possibilité d'être colonisé par les microorganismes, y compris levures.

Donc à partir de nos résultats, nous pouvons dire que notre sirop de datte contient une quantité considérable des éléments essentiels qui le qualifie comme support de culture favorable à la multiplication des levures.

II.5. Cinétique de la production d' α -amylase

Dans cette partie, nous suivons l'évolution de quelques paramètres du milieu influençant la croissance levurienne et la production enzymatique.

II.5.1. Variation de pH

La figure 15 représente la variation de pH de milieu en fonction de la durée d'incubation pendant trois jours.

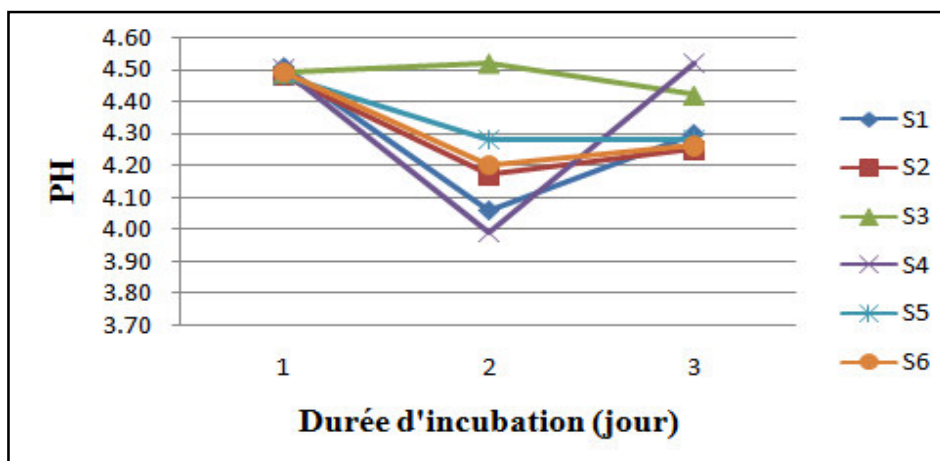


Figure 15: Variation du pH de milieu au cours de la culture.

Au cours de la culture microbienne (production ou croissance), le pH du milieu change en fonction du temps. Nous observons une diminution de PH jusqu'à 2^{ème} jour d'incubation pour les souches S1, S2, S4, S5 et S6. Mais pour la S3, on a enregistré une petite augmentation par rapport au 1^{er} jour d'incubation (4.52). À la fin de fermentation (3^{ème} jour), La valeur de pH de S3 est légèrement diminuée, alors que pour les autres souches, sa valeur augmente mais ne dépasse pas le pH initial (pH5).

Notre pH de milieu se situe entre 3.99 et 4.52, ces résultats sont similaires à ceux trouvés par **ZOUBIRI (2012)** ; à savoir un pH varié entre 3.50à5. La variation de pH de milieu au cours de la fermentation est due au changement de la composition du milieu et aux souches utilisées.

La diminution de pH peut être expliquée par la fermentations des sources carbonées disponibles dans le milieu par ces souches, puis elles en fabriquent des acides organiques, qui augmentent l'acidité du milieu, ce qui se traduit par une diminution de pH (**PANCHAL., 1990 et REFICE et al., 2011**). Mais l'augmentation de pH, peut être engendrée par de la dégradation des protéines par les levures qui libèrent progressivement des acides aminés hydrolysés en suite en ammoniacque par désamination (**BENAOUIDA., 2008**).

II.5.2. La biomasse

La cinétique de croissance des six souches nous a permis de suivre l'évaluation de la quantité de biomasse produite par chaque souche durant le temps d'incubation. Son évolution sera représentée dans la figure suivante.

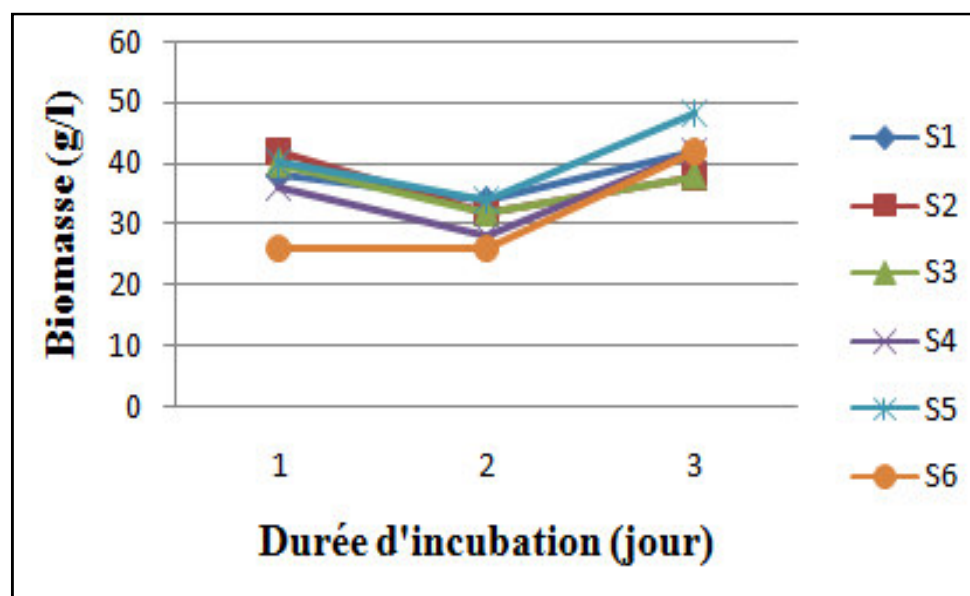


Figure 16: Variation de la biomasse au cours de la culture.

Nous constatons que la croissance des six souches varie avec la durée d'incubation, où la biomasse apparaît dès le premier jour d'incubation pour atteindre son maximum dans le 3^{ème} jours pour les souches S1, S4, S5, S6 avec des valeurs de 42, 42,48 et 42g/l respectivement ; alors que, les souche S2 et S3 sont caractérisées par un maximum de biomasse lors du premier jour (32g/l).

Une diminution de la biomasse au-delà de 2^{ème} jour d'incubation est enregistrée pour toutes les souches sauf que la souche S6 qui se caractérise par une stabilité de biomasse.

D'après les résultats obtenus, la S5 donne une quantité maximale de biomasse de l'ordre de 48g/l, cette valeur est les plus élevée par rapport aux autres souches. Ces valeurs sont supérieures a celles trouves par **BRIKI., ZITOUNI (2013)** et similaire à ceux trouvés par **SACI (2012)**, à savoir une biomasse de l'ordre de 37.33 et 48.54 g/l.

La biomasse microbienne est une source intéressante en protéines. Il est pour cela nécessaire que les protéines soit facilement assimilables et équilibrées en acides aminés (**BADID et al., 2001**). Selon **ZOUBIRI (2012)**.

L'augmentation de biomasse est expliquée par le fait que le moût de datte de milieu est riche en sucres simples facilement assimilable. Il peut donc servir comme milieu pour le développement des levures notamment quand on enrichit ce moût par les sels minéraux (**OULD EL HADJ., BITOUR., SIBOUKEUR., 2006**). L'analyse biochimique de l'extrait de datte montre sa richesse en sucres fermentescibles (glucose), ces sucres sont utilisés par la levure comme substrat organique pour réaliser sa croissance (**BACHA., 2008**).

La diminution de la quantité de biomasse caractérisée par la présence dans le milieu, de substances ou déchets sécrétés par ces levures, inhibant leur croissance progressivement (ZOUBIRI., 2012).

II.5.3. L'activité amylasique

La cinétique de production d' α -amylase par les six souches est représentée dans la figure 17.

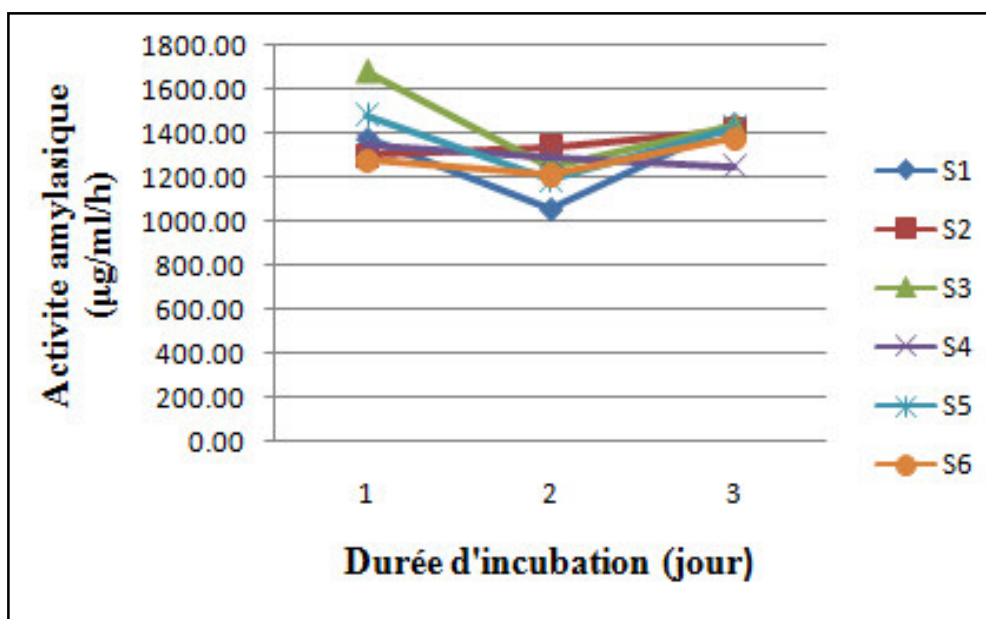


Figure 17: Variation de l'activité amylasique au cours de la culture.

Nous constatons que l'activité amylasique varie d'une souche à l'autre suivant la durée d'incubation dont une diminution de production est enregistré à 2^{ème} jour d'incubation pour les souches S1, S3, S4, S5 et S6. mais pour la S2, sa production d' α -amylase augmente, jusqu'à le maximum dans le 3^{ème} jour d'incubation avec une valeur de 1418.37 µg/ml/h.

Une augmentation de la production est enregistrée dans le 3^{ème} jour d'incubation (la fin de fermentation) respectivement pour les souches S1, S3, S5 et S6 avec un maximum de production de 1444.61, 1434.40, 1430.03 et 1379.01 µg/ml/h. Mais la souche S4 évolue en diminution jusqu'à le minimum dans le 3^{ème} jour d'incubation avec une valeur de 1250.73 µg/ml/h.

L'activité amylasique durant cette expérience varie de 1059.77 µg/ml/h à 1682.22 µg/ml/h. Ces résultats se situent dans l'intervalle cité par SACI (2012) avec des valeurs allant de 1210.125 à 3469.9 µg/ml/h.

L'activité la plus élevée est enregistrée par la souche S3 par rapport aux autres souches, cette disproportion de l'activité amylasique entre les souches revient à la différence de capacité de chaque souche de production de l' α -amylase au cours de sa croissance. Les

souches utilisent les nutriments facilement assimilables, tels que les sucres fermentescibles (Amidon) du moût de dattes pour leur développement (ZOUBIRI., 2012).

Selon LAGZOULI et al (2007), le pH allant de 5 à 6,5 a permis de donner un maximum de production des enzymes amylolytiques chez *Filobasidium capsuligenum*. De même (ZOUBIRI., 2012) indique que l'augmentation de l'activité enzymatique est fonction de l'augmentation de biomasse ; cela est confirmé par notre travail par l'ajustement du pH de départ autour du 5 et la proportionnalité de l'évolution de la biomasse avec celle de la cinétique enzymatique.

La production et l'activité enzymatique, sont sensiblement influencées par la composition du milieu (MERABTI., 2006). En milieu enrichi, le champignon a profité de l'enrichissement pour une meilleure utilisation des constituants du milieu et surtout les sucres pour favoriser sa croissance (BRIKI., ZITOUNI., 2013).

La diminution de l'activité α -amylasique peut être le résultat d'une inactivation d' α -amylase, due à l'interaction avec d'autres métabolites (enzymes, telles que les protéases ou substances toxiques) sécrétés dans le milieu, ou aux changements de pH affectant négativement le rendement en α -amylase (ZOUBIRI., 2012).

II.6. Optimisation des paramètres de culture

Dans cette partie, la cinétique de production de biomasse et d' α -amylase par les six souches a été suivie en vue de l'optimisation de la croissance et de la production enzymatique. Pour cela, on étudie l'influence du pH et de la concentration de l'amidon sur cette cinétique.

II.6.1. Le pH de milieu

Le pH de départ du milieu de culture présente un facteur d'importance influence sur les différents paramètres de la croissance levurienne, nous avons adoptés trois pH différents ; à savoir un pH de 4, 7 et 8.

II.6.1.1. Variation de pH

La variation de pH du milieu durant le temps d'incubation en fonction du pH initial du milieu est représentée dans la figure suivante.

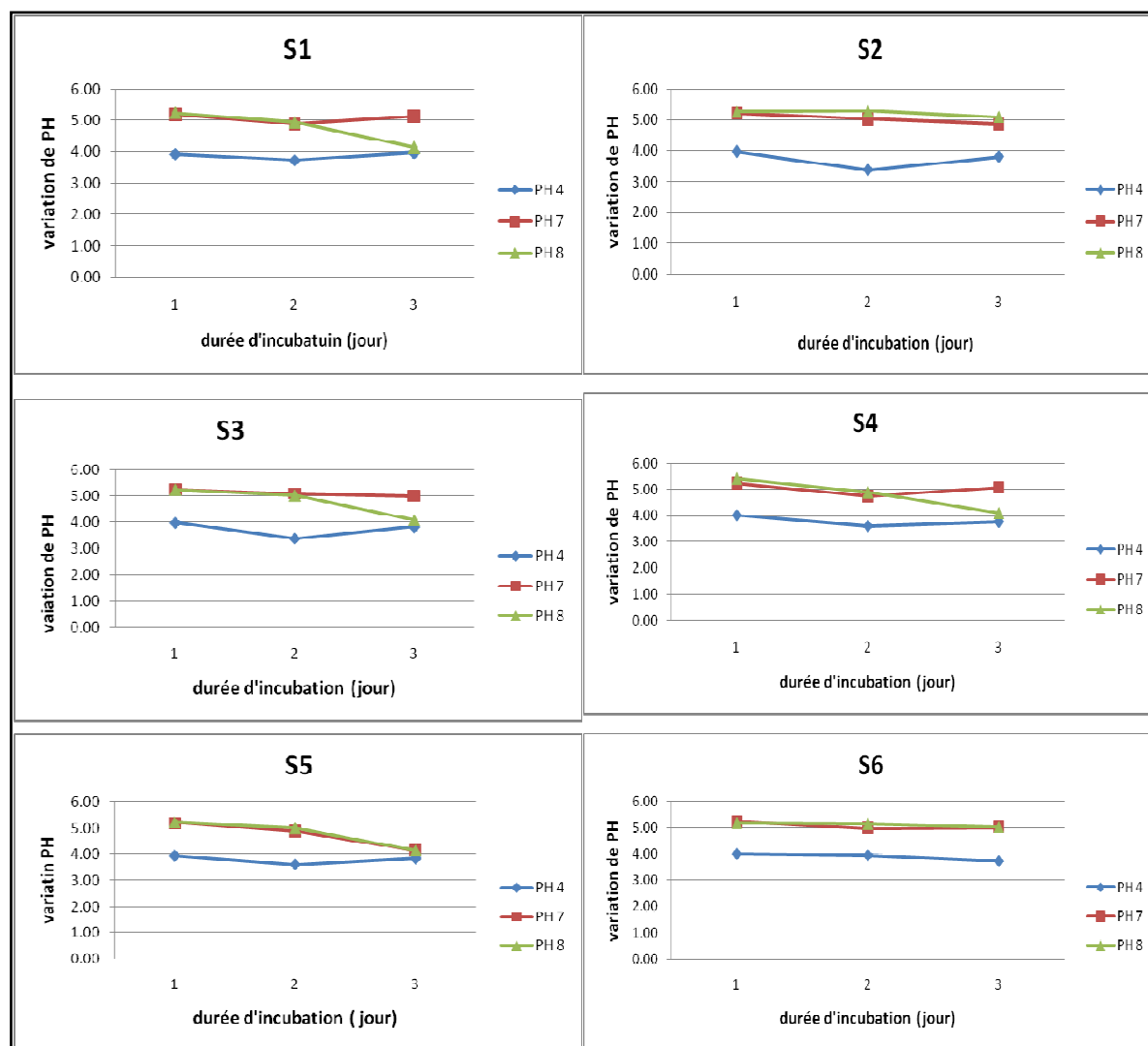


Figure 18: L'évolution de pH pendant l'incubation en fonction du pH initial du milieu.

Dans le milieu acide (pH= 4) nous observons la diminution de pH dès le 1^{er} jour jusqu'à 2^{ème} jour d'incubation chez la plupart des souches, puis une augmentation jusqu'au 3^{ème} jour. Cette variation se situe entre 4 et 3.38.

Dans le milieu neutre (pH=7), le pH est en diminution jusqu'au 2^{ème} jour, puis on assiste à une légère augmentation chez les S1, S3, S4 et S6 avec des valeurs entre 5.18 à 4.75. Pour les souches S2 et S5 ; l'abaissement du pH est plus significatif au bout du 3^{ème} jour (pH =4.16).

Dans le milieu basique (pH= 8), on remarque une diminution de pH de milieu pour toutes les souches avec valeur entre 5.41 et 4.09, sauf pour la souche S2 qui est caractérisée

par augmentation légère du pH dès le 2^{ème} (5.10 à 5.30). Ce résultat se concorde avec les travaux de **SACI., (2012)**, d'où la culture des *Streptomyces* sp dans le milieu très basique (pH=12) ; aboutit à une diminution du pH avec des valeurs se situant entre 3,8 à 5.

Chaque levure est caractérisée par un seuil en dessus duquel elle ne se développe pas (**REZKI-BEKKI., 2014**). Cela explique le développement de levures dans milieu neutre et basique après diminution de pH de milieu en pH optimale. La diminution de pH produit par des acides organiques, lactiques et d'autres acides s'accumulent en raison de l'activité microbienne (**DOUKANI., 2013**).

L'évolution du pH dans les 3 milieux est proche à celle du témoin (3.99 à 4.52) et à celle obtenu par **SACI., (2012)**, en cultivant *Streptomyces* sp dans déchet d'orange ; à savoir des valeurs 3.8 à 5.

La plupart des champignons se développent normalement à pH compris entre 3 et 8. Outre la croissance, le pH joue un rôle primordial dans la production de métabolites et les variations de pH sont indicatrices de changements dans les activités métaboliques du microorganisme (**NOUADRI., 2011**).

II.6.1.2. La biomasse

La variation de la croissance des six souches nous permet de suivre l'évolution de la quantité de biomasse produite par chaque souche, durant le temps d'incubation. L'évolution de la biomasse de nos milieux de culture en fonction du pH initial est illustrée dans la figure suivante :

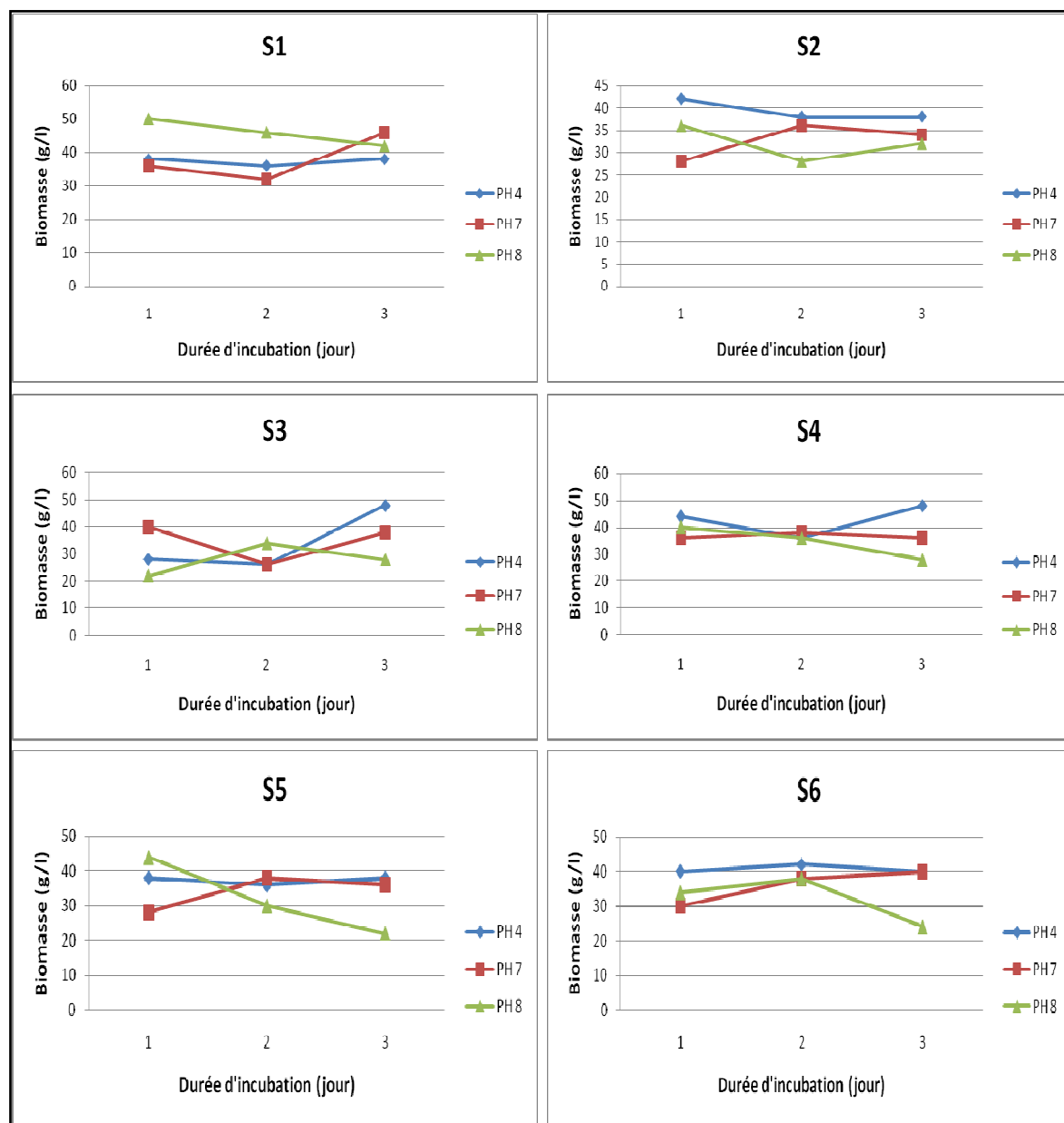


Figure 19: L'évolution de la biomasse pendant l'incubation en fonction du pH initial du milieu.

Nous constatons que la croissance des souches varie au cours de la durée d'incubation dans les différents milieux. Tandis que les courbes de biomasse de pH acide sont diminuées jusqu'à 2^{ème} jour puis augmenté au maximum dans la 3^{ème} jour d'incubation avec un

intervalle de 38 à 48 g/l. Pour le milieu neutre, la croissance de la plupart des souches est en augmentation dès le 1^{er} jour jusqu'à 2^{ème} jour d'incubation, puis diminue à la fin d'incubation, alors que pour les S1 et S3, on observe une diminution puis augmentation dans la 3^{ème} jour d'incubation.

La quantité de biomasse la plus importante est enregistrées dans les milieux où le pH de départ est de 7, ces valeurs se situent dans l'intervalle de 36 à 46 g/l. Pour le milieu basique, la croissance de la plupart des souches sont diminués jusqu'à la fin de fermentation.

Nous observons que la meilleure production de biomasse des souches s'était dans le milieu acide avec intervalle 38 à 48 g/l, où la maximum biomasse obtenu dans le 3^{ème} jour d'incubation par les souches S3 S4 avec une valeur 48 g/l. Ainsi, nous remarquons que la quantité de biomasse obtenue durant cette expérience est similaire par rapport celle du témoin avec un intervalle 40 à 48 g/l.

La variation du pH peut affecter la perméabilité membranaire et entraîne un ralentissement de l'activité enzymatique et de la croissance, d'où chaque souche de levure présente un pH optimal pour la meilleure production de biomasse (**BADID et al., 2001**). Cette variation est dû à la sensibilité spécifique de chaque souche au pH. (**REZKI-BEKKI., 2014**).

Notre résultat est proche à celui trouvé par **LAGZOULI et al (2007)**, qui font une étude sur le *candida guilliermondii* cultivées sur milieu semi-synthétique qui donne la maximale croissance avec un pH initial égal à 5 et diminue progressivement au-delà de cette valeur.

La biomasse recueillie pendant ce dernier travail se situe dans l'intervalle (4.300 à 4.405 g/l), alors que notre valeur est plus supérieure (38 à 48 g/l). Aussi, on peut comparer notre résultat avec celui de **BENNAMOUN et al (2004)**, où la production de biomasse dans le lactosérum est plus élevée dans le pH ajusté à 5 avec un enrichissement du milieu en amidon avec une valeur maximum 33.38 g/l.

II.6.1.3. L'activité amylasique

La cinétique d'évolution de l'activité amylasique des six souches durant le temps d'incubation en fonction du pH initial de milieu est représentée dans la figure suivante :

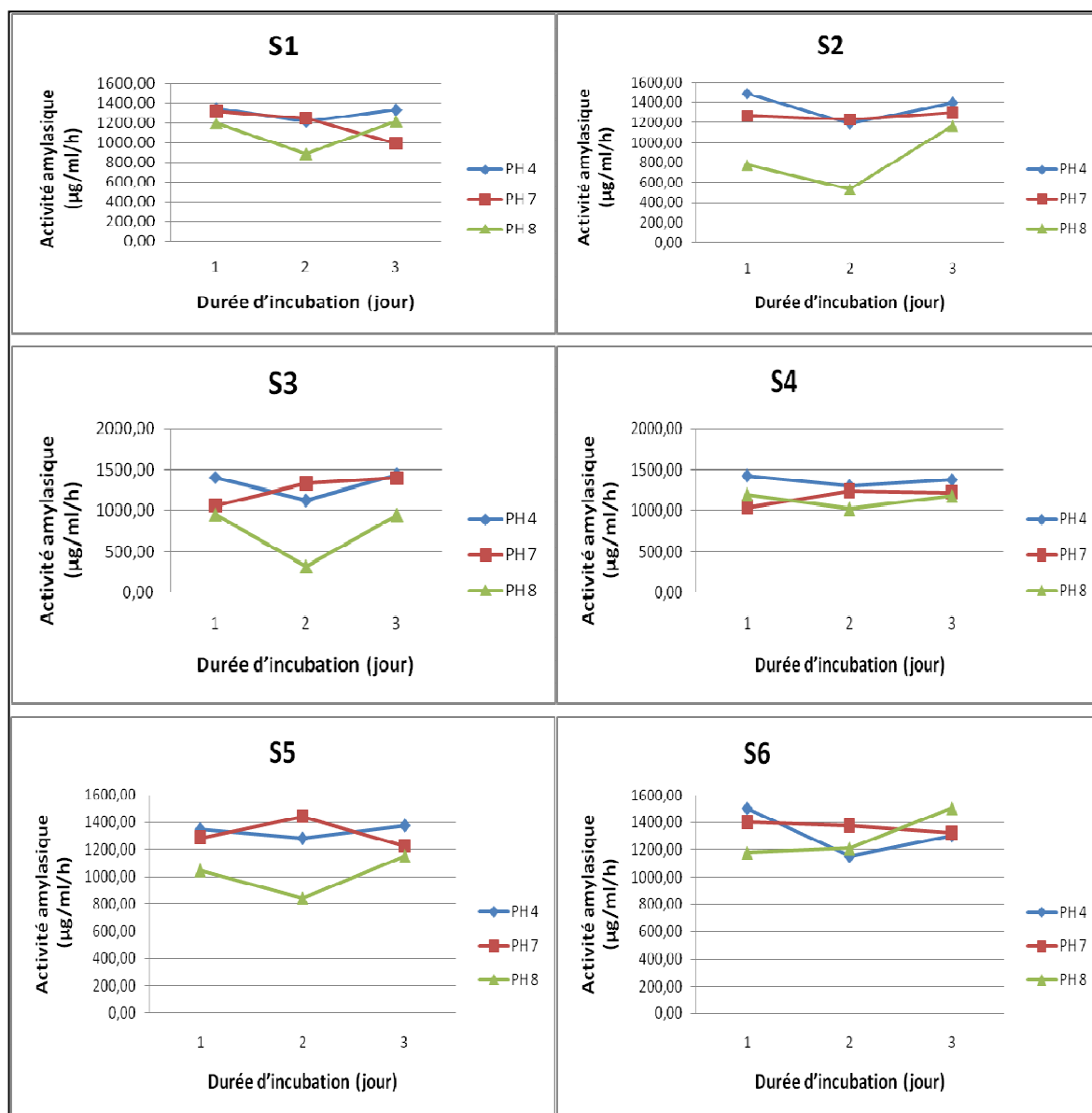


Figure 20 : L'évolution de l'activité amylasique pendant l'incubation en fonction du pH initial du milieu.

D'après ces résultats ; dans le milieu acide ; on observe une variation de l'activité amylasique entre le 1^{er} et le 3^{ème} jour d'incubation avec des valeurs entre 1126.82 à 1491.25 µg/ml/h. Pour le milieu neutre nous observons une variation de l'activité amylasique en fonction des jours d'incubation et en fonction des souches, à savoir un intervalle de valeur entre 994.17 et 1440.23 µg/ml/h), alors que pour le milieu basique on assiste à une évolution

de l'activité amylasique chez toutes les souches avec des valeurs se situant entre 320.70 et 1504.37 µg/ml/h.

L'activité amylasique du témoin de la fin d'incubation se situe dans l'intervalle de 1250.73 à 1444.61 µg/ml/h. La culture de ces souches dans les différents pH (acide, neutre et basique) montre, que la plupart d'entre elles présentent la meilleure production d' α -amylase dans le milieu acide avec un intervalle allant de 1303.21 à 1438.78 µg/ml/h, sauf que la souche S6 ; où la meilleure activité amylasique a été enregistrée dans le milieu basique, cette valeur obtenue après la diminution de PH initiale en (Ph=5.02). Selon **DRAPRON (1961)** le pH optimal pour production de l' α -amylase varie entre (5-7).

Selon **LAGZOULI et al., (2007)**, le maximum de production des enzymes amylolytiques chez *Filobasidium capsuligenum* a été dans des milieux présentant des pH allant de 5 à 6.5. Ainsi le pH influence sur l'activité des enzymes en trois niveaux :

- Il modifie l'intégrité physique de la protéine,
- Il influence l'affinité de l'enzyme pour son substrat (par changement de K_m)
- Il varie la vitesse de réaction enzymatique (par changement de V_m) (**SACI., 2012**).

II.6.2. Concentration de l'amidon.

Lors de la croissance fermentaire, les levures utilisent l'amidon comme source énergétique. Ce processus est accompagné par la production de l' α amylase. Durant cette expérience, nous avons préparés des milieux de culture à base de sirop de datte tout en variant la concentration de l'amidon dans ces milieux ; à savoir des concentrations de l'ordre de 15 g/l (A), 20 g/l (B) et 25 g/l (C).

II.6.2.1. Variation de pH

Le suivi de l'évolution du pH des milieux de culture en fonction de la concentration de départ en amidon est représenté dans la figure ci-dessous.

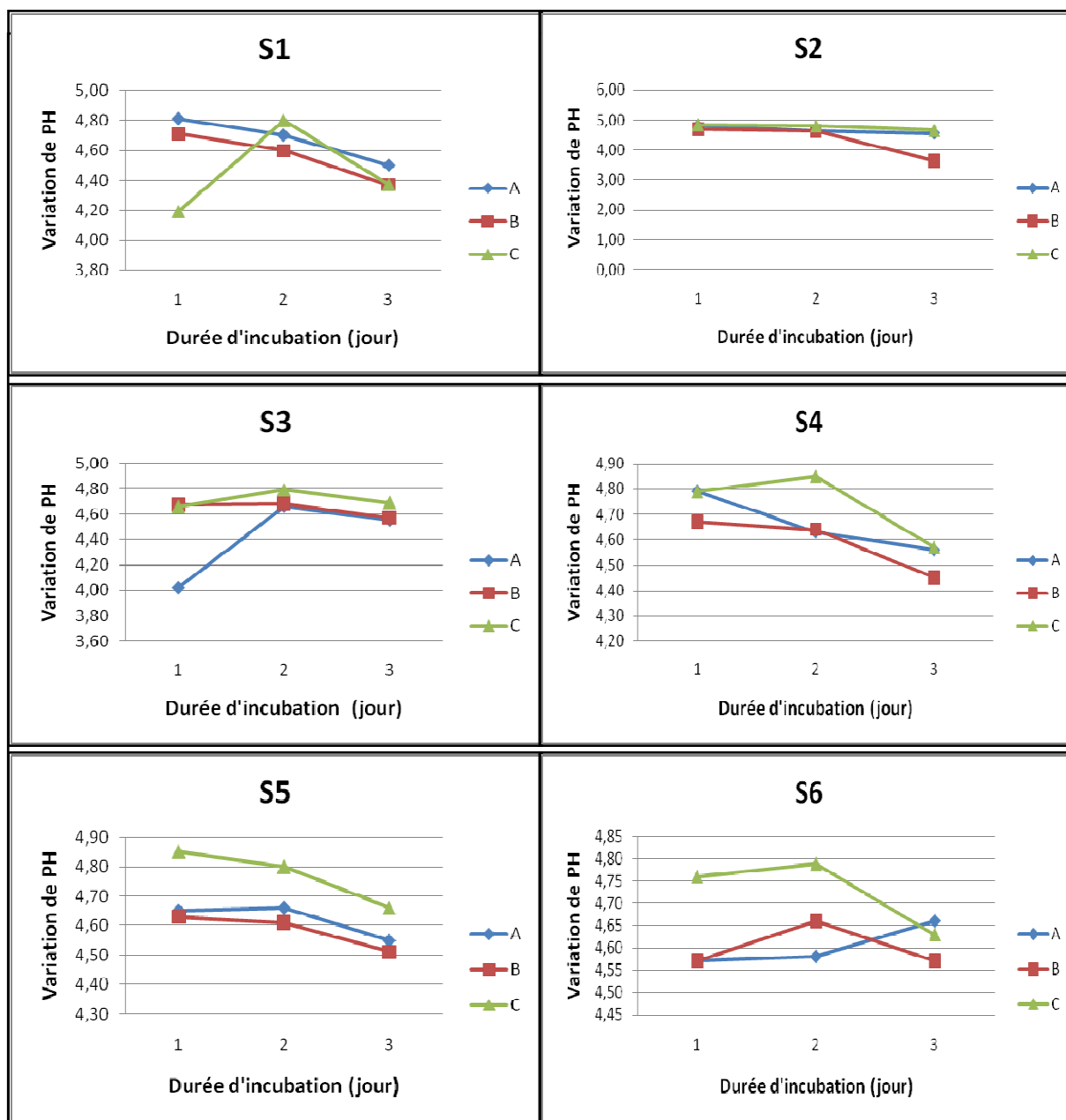


Figure 21: L'évolution du pH pendant l'incubation en fonction de la concentration de l'amidon.

Nous constatons que la variation du pH de milieu A est diminué dès le 1^{er} jour d'incubation jusqu'à la fin de fermentation, sauf pour la souche S3 et S6 qui enregistrent une augmentation au cours de l'incubation.

Généralement la variation de pH des souches se situe dans l'intervalle (4.50 à 4.66). Pour le milieu B et C, nous enregistrons une diminution du pH pendant la durée d'incubation, à l'exception pour la souche S1 dans le milieu C où on assiste à une augmentation.

Selon **SIBOUKEUR et al (2001)**, la diminution de pH dans les milieux de moût de datte variété Ghars est due à l'augmentation de production d'acide citrique. Aussi la diminution de pH dans les milieux, peut être reliée avec l'activité amylasique, où pendant la fermentation, le métabolisme de la levure induit un changement perpétuel du milieu. Ainsi, la consommation des substrats carbonés (amidon) s'accompagne de la production de métabolites acides ou l'acide organique dont les principaux sont l'acide tartrique, l'acide malique et l'acide citrique. (**BOULAL et al., 2013 et BENNAMOUN et al., 2004**).

II.6.2.2. La biomasse

La variation de la production de biomasse par les six souches cultivées dans des milieux de culture à base de sirop de datte avec des concentrations d'amidon différentes, est représentée dans la figure 22.

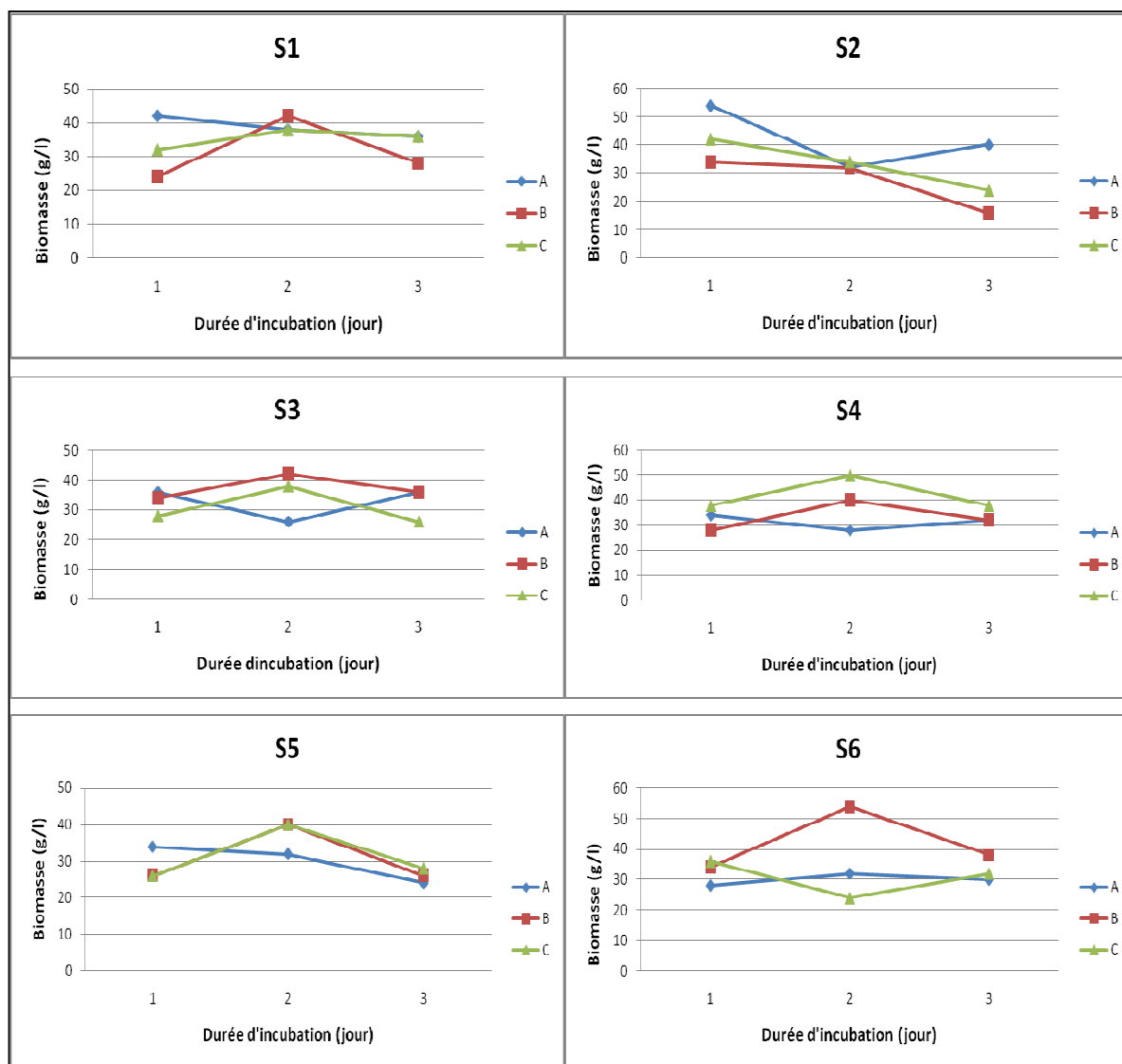


Figure 22: L'évolution de la biomasse pendant l'incubation en fonction de la concentration de l'amidon.

Dans le milieu A nous observons que le maximum de biomasse recueillie était pour les souches S1 et S2 avec valeur 42 (1^{er} jour) et 40 g/l (2^{ème} jour). Pour le milieu B ; la biomasse maximale chez les six souches est de valeur entre 40 et 54g/l au bout du 2^{ème} jour d'incubation, alors que dans le milieu C le maximum de biomasse recueillie était pour les souches S2 et S5 avec valeur 42 (1^{er} jour) et 50 g/l (2^{ème} jour). Nos résultats montrent que le maximum de biomasse pour la plupart des souches est obtenu après la culture dans le milieu B.

Ces résultats sont proches à ceux obtenus lors de la culture dans le milieu témoin, à savoir une évolution de la biomasse de 42 à 48 g/l, de même ces résultats sont supérieurs à ceux cités par **BENAOUIDA., (2008)** et **ZOUBIRI (2008)** avec un intervalle de valeurs se situant entre 7 et 10.18 g/l.

Il semble que la croissance maximale de biomasse se fait dans le milieu B, ceci peut être lié à la concentration optimale en amidon permettant l'obtention du bon rendement de biomasse.

Selon **SACI (2012)**, la biomasse est influencée par l'amidon soluble (1%) considéré comme source adéquate de carbone provoquant une augmentation de 53%.

II.6.2.3. Activité amylasique

La cinétique de croissance des six souches nous permet de suivre la production d' α -amylase par chaque souche, la courbe d'évolution de cette activité en fonction de la concentration du milieu en amidon est illustrée dans la figure suivante.

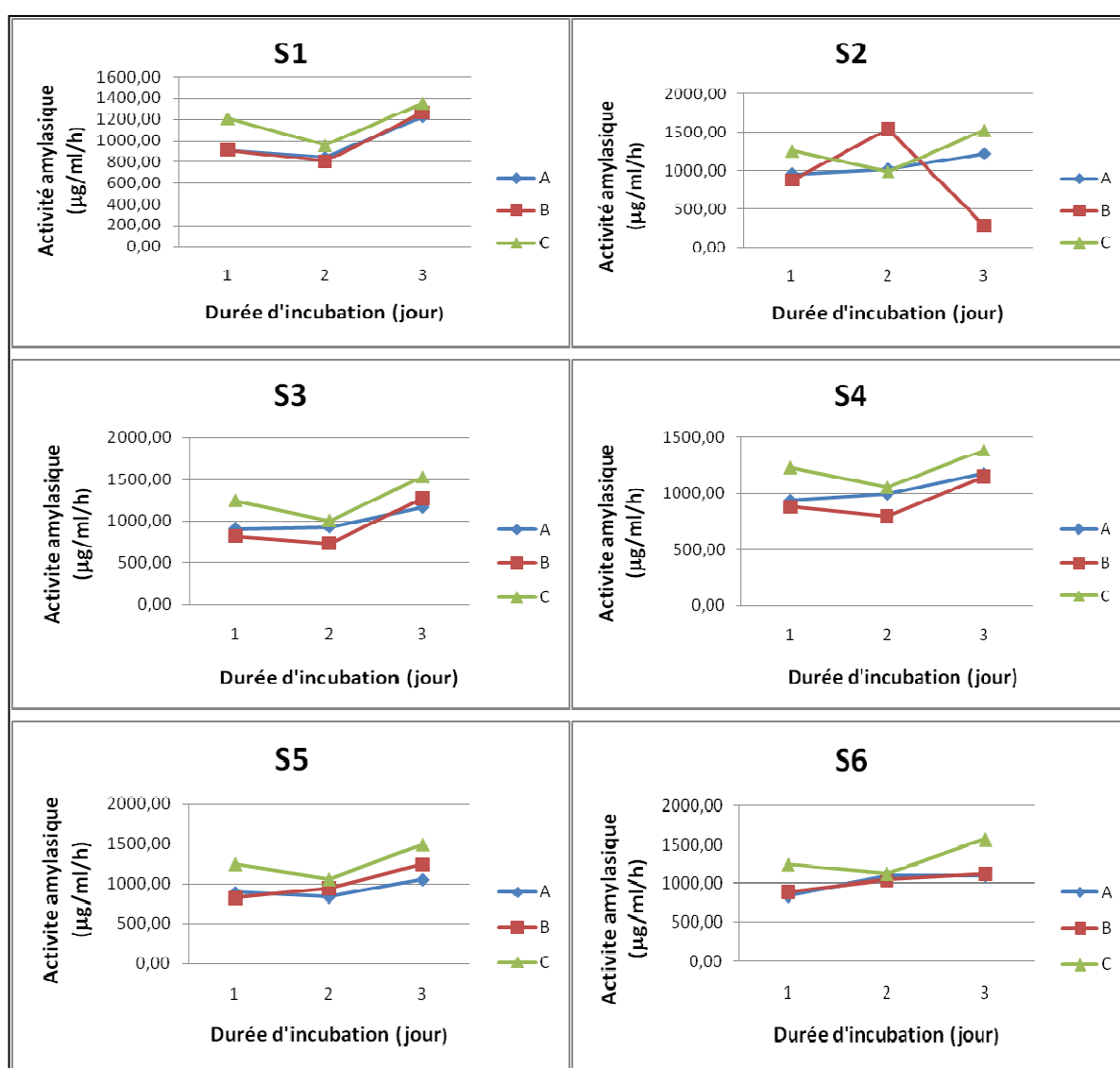


Figure 23 : L'évolution de l'activité amylasique pendant l'incubation en fonction de la concentration de l'amidon.

Nous constatons que la production d' α -amylase chez toutes les souches augmente dès le 1^{er} jour jusqu'à le 3^{ème} jour d'incubation dans tous les milieux.

La meilleure production d' α -amylase de la fin d'incubation a été enregistrée dans le milieu C (1357.14 à 1577.26) pour la plupart des souches comparativement aux autres milieux et au témoin qui présente une évolution de 281.34 à 1444.61 $\mu\text{g/ml/h}$.

À partir des ces valeurs, nous constatons qu'il existe une corrélation directe entre la concentration de l'amidon et l'activité enzymatique; où la concentration d'amidon dans le milieu influencent positivement sur l'activité de l'enzyme.

Cette augmentation est due à l'utilisation de l'amidon par les souches comme source de carbone et d'énergie, aussi l'amidon est considéré comme un substrat idéal de l'induction de l' α -amylase (**BENNAMOUN et al., 2004**). Plusieurs auteurs ont remarqué son efficacité dans la synthèse de l' α -amylase testés (**SACI., 2012. AYOGU., AMADI., 2009 et KANIMOZHI et al., 2014**). Il a été démontré également que la présence d'amidon soluble dans les milieux de culture stabilise et protège l'enzyme vis-à-vis de la dénaturation (**SACI., 2012**).

D'après la culture des souches sur des milieux à différents pH, nous remarquons que la maximum de biomasse a été enregistrée chez les souches S3 et S4 cultivées dans le milieu acide avec une valeur de 48 g/l, alors que la maximum sécrétion de l'enzyme s'était chez la souche S6 dans le milieu neutre avec valeur 1504.37 $\mu\text{g/ml/h}$.

Par ailleurs, d'après la culture dans des milieux de différentes concentrations d'amidon, nous remarquons que la meilleure croissance (biomasse) se fait dans le milieu B et la meilleure activité amylasique s'était dans le milieu C chez la souche S6 avec une valeur de 54 g/l et 1577.26 $\mu\text{g/ml/h}$ respectivement.

*Conclusion
générale*

Conclusion générale

L' α -amylase est l'une des plus importantes hydrolases actives sur l'amidon dont les domaines d'application s'élargissent de plus en plus. La production de cette enzyme a été réussie par certaines bactéries, levure et certains genres de moisissures.

Notre étude comporte deux axes de recherche. Le premier concerne l'isolement et la sélection des souches levuriennes amylolytiques isolées à partir de blé dur (El-oued). La seconde partie est consacrée à la production de l' α -amylase par fermentation dans un milieu naturel (sirop de dattes).

Les résultats des analyses physico-chimiques indiquent que l'échantillon du blé dur présente une teneur considérable en sucres totaux (9.9%), et en protéine (1.75%). Ce produit peut être contaminé par les microorganismes.

L'échantillon de 5g de blé dur prélevé de région d'el-oued, a permis d'isoler 14 souches. La sélection sur milieu PDA contenant 1% d'amidon (substrat inducteur) a révélé que la souche S1, S2, S3, S4, S5 et S6 sont les plus performantes dans la production de l' α -amylase.

Par ailleurs, le milieu de fermentation, à base de sirop de datte est utilisé pour la production de l' α -amylase des six souches. Une analyse physico-chimique de sirop de datte est effectuée. Celle-ci montre que les sucres totaux représentent (30.53%), avec un pH de 5.68 et un taux de cendres de 2%.

L'enrichissement du milieu avec de l'azote et des sels minéraux, afin de l'équilibrer et de le rendre favorable au développement et à la production de l' α -amylase par les souches S1, S2, S3, S4, S5 et S6.

Au cours de la culture, on étudie la cinétique de croissance et de production d' α -amylase par les six souches. Ceci a montré une production maximale de biomasse dans le 1^{er} jour d'incubation à 30 °C, pour les souches S2 et S3 et dans le 3^{ème} jour pour les souches S1, S4, S5 et S6 et une meilleure production d' α -amylase enregistrée dans le 1^{er} jour pour les souches S3, S4 et S5 et dans le 3^{ème} jour pour les souches S1, S2 et S6.

L'optimisation de la production de la biomasse et de l' α -amylase sur le milieu à base de sirop de datte a été réalisée en variant les conditions de culture: pH de milieu (acide, neutre et basique) et concentration d'amidon (15, 20 et 25 g/l) pour obtenir un meilleur rendement.

Pour la variation de pH de milieu, on n'observe pas une variation significative par rapport au témoin ; ainsi, pour les différentes concentrations d'amidon, la meilleure croissance est enregistrée dans le milieu B avec une valeur de 54 g/l pour la souche S6 dans

le 2^{ème} jour. La meilleure activité enzymatique a été illustrée dans le milieu C avec une valeur de 1577.26 µg/ml/h par la souche S6 dans le 3^{ème} jour d'incubation.

Ces résultats ouvrent d'autres perspectives qui seront réalisés dans le cadre d'autres travaux complémentaires qui s'intéressent à :

- L'identification des espèces levuriennes isolées, par des tests d'assimilations de substrats et par les galeries biochimiques, voire les techniques moléculaires.
- La purification de l'enzyme produite, pour un usage alimentaire ou pharmaceutique.
- L'immobilisation de l'enzyme pour augmenter sa stabilité thermique.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- ABDELFATTAH A.C., 1990- La date et le palmier dattier. Ed Dar El-Talae, Caire cité par MIMOUNI Y., 2009- Mise au point d'une technique d'extraction de sirops de dattes ; comparaison avec les sirops à haute teneur en fructose (HFCS) issus de l'amidonnerie. thèse magister Biochimie et Analyse des Bio-produits.. OUARGLA: UNIVERSITE KASDSI MERBAH.175p.
- ABSI R., 2013- Analyse de la diversité variétale du Palmier Dattier (Phoenix dactylifera L.): Cas des Ziban (Région de Sidi Okba).thèse de magister Agriculture et environnement en régions arides. BISKRA. UNIVERSITE MOHAMED KHIDER .105p.
- ACOURENE S., BUELGUEDJ M., TAMA M., Taleb B., 2001- caractérisation, évaluation de la qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des zibans. Recherche agronomique, N°8.ED.INRAA. 19-39p.
- ACOURENE S., TAMA M., 2001 -Utilisation des Dattes de Faible Valeur Marchande (Rebuts de Deglet-Nour, Tinissine et Tantboucht) Comme Substrat pour la Fabrication de la Levure Boulangère. Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse.1-10.
- AIT KAKI- EL-HADEF EL-OKKI H., LEGHLIMI2 S., DAKHMOUCHE L., BENNAMOUN., Z MERAIHI., 2012- utilisation de la planification expérimentale pour l'optimisation de la production de l' α - amylase par rhizopus oryzae. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 6, N°1: 1-17.
- AL FARSI, M., LEE C., 2008- Nutritional and functional properties of dates: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol. 48 877–887.
- AMELLAL NEE CHIBAN H., 2008- aptitude technologiques de quelques variétés communes de dattes : formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. thèse doctorat génie alimentaires. BOUMERDES. Université M'hamed BOUGARA.186p.
- ATI ABDEL OUAHAB N., 2008- microbiologie alimentaire. 4362. Ed 3. Office des publications universitaires Constantine. Alger. 147p.
- AYOGU T, AMADI E., 2009- Amylase Production by Rhizopus nigricans Using Mashed Maize. The Internet Journal of Microbiology. Vol. 8 N°1.96-80.
- BACHA A., 2008- production et étude de l'activité de l'invertase produite par la levure *saccharomyces cerevisiae* sur substrat a base de datte. thèse magister. technologie alimentaire. batna. université el hadj lakhdar. 98p.
- BACHA A., 2008- production et étude de l'activité de l'invertase produite par la levure *saccharomyces cerevisiae* sur substrat a base de datte. Diplôme de magister: technologie

alimentaire. Batna: université el hadj lakhdar. 98p.

BAHOUS M., OUAZZANI TOUHAMI A., DOUIRA A., 2008- Survie de quelques pathogènes fongiques sur les feuilles de riz conservées au laboratoire. Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie. n°30.13-18.

BARKOUTI A., 2012- agglomération humide de poudres à réactivité de surface - Approche mécanistique de la morphogenèse de structures alimentaires agglomérées. Thèse doctorat. Génie des Procédés. UNIVERSITE MONTPELLIER II SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC.189p.

BELGUEDJ M., 2001. Caractéristiques des cultivars de dattes dans les palmeraies du Sud-Est Algérien, N° 11, INRAA. El-Harrach, Alger. 289 p.

BELYAGOUBI Larbi., 2006- effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales.thèse magister en biologie. Telemcen. université abou beker belkaid.110p.

BENAHMED DILALI. Adiba , AMRANI Malika, AZOUAOU. Mélissa, DAMIR. Amel et BENAMARA Salem., 2011- possibilité de fabrication d'un jus naturel à base d'un sirop de dattes communes et d'un extrait de spiruline et jus de citron naturel. 1-14p.

BENAHMED M., 2011- Etude de l'Effet d'un Régime Alimentaire à Base de la Telbina sur l'Hyperglycémie chez les Rats Wistar rendus Diabétiques par la STZ. Thèse de Magister. Agronomie. Université ABOU BEKR BELKAÏD. TLEMCEM. 97p.

BENAOUIDA K., 2008- étude de l'alpha amylase de levure isolées d'un écosystème extrême (sol environnant des sources thermales) et cultivées sur un milieu à base de lactosérum. Thèse magister. Biotechnologie microbiennes. Constantine. UM. 104p.

BENCHABANE A., KECHIDA F., BELALLOUI D., AOUDJIT R, OULD EL HADJ Mohamed., 2012- VALORISATION DE LA DATTE PAR LA FORMULATION D'UNE BOISSON À BASE DE LAIT ET DE JUS D'ORANGE. Algerian Journal of Arid And Environment (AJAE). vol 2 n°1.1-5p.

BENHANIA Z., 2013- étude de la fabrication de la farine et contrôle de sa qualité. Master académique: science et techniques. OUARGLA. Université kasdi merbah. 82p.

BENHMED DJILALI A., 2012- Analyse d'aptitude technologique de poudres de datte (phoenix dactylifera .L) améliorées par la spiruline. Etude des propriétés technologiques nutritionnelles et antibactériennes. Thèse de doctorat. en Technologie Alimentaire. Université M'hamed Bougara-Boumerdes : 41, 42,102p.

BENJAMAIN N., ALKHALIDIM., 1985- The effect of cold storage conditions on the quality of six date fruit cultivars at rutab stage I.n : Date. Palm .Journal. Vol 4, N° 1: 1-17.

- BENKADRI S., 2010- Contribution à la diversification de l'alimentation pour enfants cœliaques: fabrication de farines-biscuits sans gluten. Thèse de MAGISTER. Biochimie et Technologies Alimentaires. UNIVERSITE MENTOURI. CONSTANTINE. 106p.
- BENKARA MOSTEFA S., 2006- Aptitude technologique de trois formules à base de riz pour la fabrication de pain sans gluten. MAGISTER: Sciences Alimentaires. CONSTANTINE. Université Mentouri. 142p.
- BENNAMOUN L., MERAIHI Z., DAKHMOUCHE S., 2004- Utilisation de la planification expérimentale pour l'optimisation de la production de l' α -amylase par *Aspergillus oryzae* Ahlburg (Cohen) 1042.72 cultivé sur milieu à base de déchets d'oranges. Journal of Food Engineering 64. 257–264.
- BERINDI A., 2000- La technologie de palmier dattier. Ed. Dimechk. Damas : 94 – 101.
- BERTHEAU Y., KOTOUJANSKY A. et COLENOA A., 1985- Sources actuelles et potentielles denzymes d'hydrolyses et de dépolymérisation. In : Mouranche A. et Coste C. (Ed) : Hydrolyses et dépolymérase enzymes, d'intérêt industriel. Ed. Gautier-Villard: 47-108.
- BOEL E., BRADY L., BROZOWSKI A-M., DEREWANDA Z., DODSON G-G., JENSEN V-J., PETERSEN S-B., SWIFT H., THIM I. & WOLDIKE H-F., 1990- Calcium binding in α -amylase: an X-ray diffraction study at 2,1 Å resolution of two enzymes from *Aspergillus*. Biochem., 29. 6244-6249p.
- BOUIX M., LEVEAU J., 1999- Production des enzymes. In : Scriban R. (Ed) : Biotechnologies. Ed. Lavoisier. 344-400.
- BOULAL A., BENBRAHIM Z., BENALI B., LADJEL S., 2013- Etude comparative de rendement de la production d'éthanol de deux variétés de dattes communes de faible valeur commerciale (Tinaceur et Aghmou) de Sud – Ouest de l'Algérie. Revue des Energies Renouvelables. Vol. 16 N°3. 539 – 550.
- BOURAS H. BOUREGA A. KHINECHE S., 2006- influence des facteurs physiologiques et nutritionnels sur la production de la biomasse microbienne (levure boulangère). Mémoire de fin d'études: biochimie. Université de KASDI MERBAH: Ouargla. 78P.
- BOURGEOIS C. M., LARPENT J., 1996- Microbiologie alimentaire. Vol II: Aliments fermentés et fermentation alimentaire. Ed Lavoisier. Paris, 523 p. citées par BACHA A., 2008- production et étude de l'activité de l'invertase produite par la levure *saccharomyces cerevisiae* sur substrat à base de datte. Diplôme de magister: technologie alimentaire. Batna: université el hadj lakhdar. 98p.

- BOURGEOIS C.M., MESLLE J. F., ZUCCA J., 1988- Microbiologie alimentaire. Tome I. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Ed. Technique et Documentation, LAVOISIER, APRIA, Paris: 161-169. Cité par BENAOUIDA K., 2008- Etude de l'alpha amylase de levure isolée d'un écosystème extrême (sole environnant des sources thermales) et cultivées sur un milieu à base de lactosérum. Diplôme de magistère. Université MANTOURI Constantine. 100p.
- BOUZEGAG H., 2007- Recherche et identification des souches de levures types sahariens issus de la datte et Du vinaigre traditionnelle de dattes. Diplôme d'étude supérieur en biologie: Microbiologie. Ouargla: Université KASDI MERBAH. 56p.
- CARLOS R., GÁBOR P., 2006- Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. ED .Springer, Berlin.587p.
- CHEVALLIER D., 1990- les applications des biotechnologies à l'agriculture et à l'industrie agro-alimentaire. Tom 1. N° 1827.177p.
- CHARLES A, GUY L et LAURENT M., 2003- Biochimie alimentaire, 5^{ème} édition de labrégé. Dunod, Paris.
- CHATTERTON J., VOGELSONGK M., LU Y- ELLMAN A-B., et HUDGENS G-A., 1996- Salivary -amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. Clin. Phisiol. J. 16(4): 344-348.
- COMI K., AKENO T., MINITOKI T., OZEKI K., KUMAGAI C., OKAZAKI N and LINURA Y., 2000- Molecular cloning and characterization of a transcriptional activator gene any involved in the amylolytic gene expression in *Aspergillus oryzae*. Basic. Biotechnol. Biochem., 64 (4), p: 816-827.
- COOLBEAR T., DANIEL R.M., MORGAN H.W., 1992- The enzymes from extreme thermophils: bacterial sources, thermostabilities and industrial relevance. Advanced Biochemistry and Engineering Biotechnology. (45): 57–97.
- COSTES C., 1982- Les enzymes ; Production et utilisations industrielles. Bordas, Paris. 37-195p.
- DAASAMIOUR S., 2009- ETUDE QUANTITATIVE DES COMPOSES PHENOLIQUES DES EXTRAITS DE TROIS VARIETES DE DATTES (*Phoenixdactylifera*L.) ET EVALUATION IN VITRO DE LEUR ACTIVITE BIOLOGIQUE .thèse magister Biochimie appliquée. Batna : Université El-Hadj Lakhdar.160p.
- DAUTER Z., 1999- Xary structure of the maltogenic -amylase from *Bacillus stearothermophilus*, novamyl, maltose and acarbose complexe at 1,7 Å resolution. Biochem. (38).8385-8392p.

- DAVIES G-J., WILSON K-S. ET HENRISSAT B., 1999- Nomenclature for sugar binding subsites in the glycosylhydrolases. *Biochem. J.*, 321, p: 557-559.
- DEVIN A., 2010- Etablissement de l'implication des α et β amylases et des α -glucanes phosphorylases au cours de la dégradation de l'amidon dans la feuille d'*Arabidopsis thaliana*. Thèse de doctorat école doctorale biologie santé. Université des sciences et technologies de Lille. 114p.
- DJERBI M., 1994- Précis de phéniculture, F.A.O, Rome. 191p.
- DJIDEL A., 2007- production d'acide lactique par *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus* sur jus de datte : cinétique et optimisation en cultures discontinues, semi-continues et continues. biotechnologie et industrie alimentaire. thèse doctorat. Ecole Nationale Supérieure D'Agronomie et des Industries Alimentaires. 246p.
- DJILALI B., BOUZIANE A., AHMED H., KADA I., OUIS N., SAHNOUNI F., 2013- Lactic acid production by a mixed culture of lactic bacteria based on low value Dates syrup. *American Based Research Journal*. Vol-2-Issue3. ISSN. 2304-7151.
- DJOUAB, A., 2007- Essai de formulation d'une margarine allégée à base d'un extrait de dates Mech-degla. Thèse de Magister spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès. 102 p.
- DJOUDI I., 2013-Contribution à l'identification et à la caractérisation de quelques accessions du palmier dattier (*Phoenix Dactylifera*.L) dans la région de Biskra. tèse magister. Agriculture et environnement en régions arides. Biskra. Université Mohamed Kheider. 141p.
- DOLLE V., TOUTAIN G., 1990- Valorisation de la datte. *CIHEAM*.vol. n°11 :301-318.
- DOSSOU J., SOULE I., MONTCHO M., 2007- Evaluation des caractéristiques physico-chimiques et sensorielles de la purée de tomate locale produite à petite échelle au Bénin. *TROPICULTURA*. 25. 2. 119-125.
- DOUKANI K., TABAK S., 2015- Profil Physicochimique du fruit "Lendj" (*Arbutus unedo* L). *Nature & Technologie».B-Sciences Agronomiques et Biologiques*. N°12. 53-66.
- DOUKANI K., TABAK S., GOURCHALA F., MIHOUB F., OUNES M., BENBAGUARA M., 2013- Caractérisation physico-chimique du blé fermenté par Stockage Souterrain (Matmora). *Revue Ecologie-Environnement* (9) : ISSN : 1112-5888. 1-9p.
- DOUKANI K., TABAK S., GOURCHALA F., MIHOUB F., OUNES M., BENBAGUARA M., 2013- Caractérisation physico-chimique du blé fermenté par Stockage Souterrain (Matmora). *Revue Ecologie-Environnement* (9). ISSN : 1112-5888. 1-9p.
- DRAPRON R., 1961- Etat actuel de nos connaissances sur l'action des amylases en panification biscotterie et biscuiter. *N. t*82.69-80.

- DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON P.A., RUBERG A and SMITH F., 1956- Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*.28.3:350-356p.
- DUCHAINÉ C, MERIAUX A, RACINE-BEDARD G, SIMARD S et CORMIER Y., 1999- Des scieries du Québec et son impact sur la santé des travailleurs: influence des sites de travail et des essences de bois sur la qualité de l'environnement. Centre de pneumologie de l'Hôpital Laval, Université Laval.80 p.
- EGAS M.C., DA COTA M.S., COWMAN D.A, et PIRES E.M.,1998- Extracellular α -amylase from *Thermus filiformis* ork A2 : purification and biochemical characterisation. *Extremophiles.*, 2(1), p: 23-32.
- EL-OGAIDI A.K.H., 2000- Le palmier dattier science technologique Agronomique et industrielle. Ed. Dar ezahran, Oman, 410 p.
- ESPIARD E., 2002- Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc. Lavoisier, Paris. 147-155p.
- Farber G.K and PetskoG. A., 1990- The evolution of / barrel enzyme. *Trends. biochem. SCI.*, 15. 228-234p.
- FAVIER, J., IRELAND, R., LAUSSUCQ C., ET FEINBERG M., 1993- Répertoire général des aliments.,Table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. Tome III, Ed. ORSTOM Edition. Lavoisier. INRA Editions. 27-28p.
- GACEM M A., 2011- Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *Citrullus colocynthis* sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké. Thèse Magister Microbiologie appliquée. OUARGLA. UNIVERSITE KASDI MERBAH. 149p.
- GACEM M., OULD EL HADJ KHELIL A. et GACEMI B., 2011- étude de la qualité physico-chimique et mycologique du blé tendre local et importe stocke au niveau de l'office algérien interprofessionnel des céréales (oaic) de la localité de Saida (Algérie). *Algérien journal of aride environnent*. Vol. 1, n° 2. v: 67-76.
- GILLES P., 2000 - cultiver le palmier –dattier. ED. GRIDAO : France. 113 p.
- GUERIN B., GAUTHIER .A., ORTHIEB J.,1982- Série de synthèse bibliographique.: Les sirops (saccharose, glucose, fructose et autre édulcorants : valeur technologique et utilisation. Ed. APRIA, n°18, Paris, 123 p.
- LAGZOULI M., CHAROUF R., EL YACHIOUI M., OUHSSINE M., BERNY E H et JADAL M., 2007- optimisation de la croissance et de la production de glucoamylase extracellulaire. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 146: 251-270.

- HAMMER E., KROWAS D., SCHÄFER A., SPECHT M., FRANCKE W., ET SCHAUER F.,1998- Isolation and Characterization of a Dibenzofuran Degrading Yeast: Identification of Oxidation and Ring Cleavage Products. *Appl Environ Microbiol.* 64(6): 2215–2219.
- HAQ I., AHSRAF H., IABAL J. and QADEER M.,2003- Production of α -amylase by *Bacillus licheniformis* using an economical medium, In: Behal A., Singh J., Sharama M.K., Pur P and Batra N., Characterisation of Alkaline α -Amylase from *Bacillus* sp AB 04. *International Journal of Agriculture & Biology.* 08(1): 80-83.
- HENCKÉ S., 2000- Utilisation alimentaire des levures. Diplôme de Docteur: Pharmacie. NANCY I: Université HENRI POINCARÉ.188p.
- HESLOT H., 1996- L'ingénierie des protéines et ses applications. Lavoisier Tec et Doc. 424-432p.
- HORII, A., EMI, M., TOMITA, N., NISHIDE, T., OGAWA, M., Mori, T., MATSUBARA, K., 1987- Primary structure of human pancreatic α -amylase gene :its comparison with human Salivary α -amylase gene. *Gene.*60:57-64.
- HWANG K., SONG H-K., CHANG C., LEE J., LEE S., KIM K., CHOE S., SWEET R. & SUCH S.,1997- Crystal structure of thermostable α -amylase from *Bacillus licheniformis* refined at 1,7 Å resolution. *Mol. Cells.*, 7(2). 251-258.
- KADZIOLA A., ABE J., SVENSSON B. and ASER R., 1994- Crystal and molecular structure of barley- α -amylase. *J. Mol. Biol.*, 239. 104-121p.
- KANIMOZHI M., MIDHUSHA J, GAYATHRI N., SUBASHKUMAR R., 2014- Optimization and Production of α -Amylase from Halophilic *Bacillus* Species Isolated from Mangrove Soil Sources. *Journal of Applied & Environmental Microbiology* 2.3. 70-73.
- KEATING L., KELLY C., FORGARTRY W., 1998- Mechanism of action and the substrate dependant pH maximum shift of the- α -amylase of *Bacillus coagulans*. *Carbohydrate Research.* 311-318.
- KENNEDY K., 2008- How to avoid stuck fermentations.clarisar.vol.538:103-107.
- KREGER -VAN RIJ N.J.,1984- The yeast, a Taxonomic Study, Elsevier Biomedical.
- LAMMI S., 2011- Recherche de substances à activités antimicrobiennes (antibactériennes et anticandidoses) produites par des souches levuriennes isolées des sols sahariens. Département de Biochimie et de Microbiologie. Université Mentouri. Thèse de Magistère, Constantine. 91p.
- LARPENT J., 1991- biotechnologie des levures. masson, paris. Milan barcelona bonn.426p.
- LEVEAU J.Y., BOUIX M., 1979- Etude des conditions extrêmes de croissance des levures osmophiles. *Ind. Alim. Agric.*, 11. 1147-1151.

- LODDER J., 1971- The yeast, a taxonomic study, 2ème edition. North Holland, Amsterdam, Londres. p: 1385.
- MADIGAN AT GOHN MARTINKO M., 2007- biologie des microorganisms. 11 édition:pearson éducation. paris. 480p.
- MANTSALA P et ZALKIN H ., 1979-J . Biol . Chem. 254, p: 8540 -8547.
- MARLENE C., 2006- Etudes physiologiques de l'adaptation et de la résistance de la levure *Saccharomyces cerevisiae* au cours de la production intensive d'éthanol. Thèse doctorat Microbiologie et Biocatalyse industrielles. Toulouse. INSA.265P.
- MC CARTER J.D AND WITHERS S.G., 1996- Unequivocal identification of Asp-214 as the catalytic nucleophile of *Saccharomyces cerevisiae* -glucosidase using 5-fluoro glycosyl fluorides. J. Biol. Chem., 271, p: 6889-6894.
- MC TIGUE, KELLY C.T., DOYLE E.M et FOGARTY W.M., 1995- The alkaline amylase of the alkalophilic *Bacillus* sp. IMD 370. Enzyme and Microbial Technology. (17):570-573.
- MERABTI R. 2006- Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien. Diplôme de magistère. Université Mentouri, Constantine. 139p.
- MERCIER C., 1985- Les enzymes amylolytiques. In Mauranch A & Costes C. (Ed): Hydrolase et polymerases.Ed. Gauthier Villars.109-142p.
- MIMOUNI Y. et SIBOUKEUR O., 2011- Etude des propriétés nutritives et diététiques des sirops de dattes extraits par diffusion, en comparaison avec les sirops à haute teneur en fructose (isoglucoses), issus de l'industrie de l'amidon. Annales des Sciences et Technologie. Vol. 3, N° 1:1-11.
- MIMOUNI Y., 2009- Mise au point d'une technique d'extraction de sirops de dattes ; comparaison avec les sirops à haute teneur en fructose (HFCS) issus de l'amidonnerie. thèse magister Biochimie et Analyse des Bio-produits.. OUARGLA: UNIVERSITE KASDSI MERBAH.175p.
- MIMOUNI Y., SIBOUKEUR O., BAYOUSSEF Z., 2014- Fructose-rich syrup from Ghars cultivar dates (*Phoenix dactylifera* L.). Emir. J. Food Agric. 26 (11): 963-969.
- MIMOUNI Y., SIBOUKEUR Oumelkheir., 2011- étude des propriétés nutritives et diététiques des sirops de dattes extraits par diffusion, en comparaison avec les sirops à haute teneur en fructose (isoglucoses), issus de l'industrie de l'amidon. Annales des Sciences et Technologie. Vol. 3, N° 1. 1-11p.
- MOHAND MOULOUD B., 1994- relation entre la structure des polymeres parietaux et la floculation des levures *KLUYVEROMYCES LACTIC*. Thèse doctorat science naturelles

.université Henri Pointcarré.448p.

MOKHATARI S., 2013- Effet protecteur de certaines bactéries lactiques isolées a partir de blé fermenté type haumoum. Thèse magister. Phtisiologie de la nutrition et de sécurité alimentaire. Université d'Oran. 165p.

MOULIN G et GLAZY P.,1978- Z. Allg. Mikrobiol. 18, p : 269- 274.

MOULOUD BELLAL M., 1994- relation entre la structure des polymeres parietaux et la floculation des levures *KLUYVEROMYCES LACTIC*. thèse doctorat. Sciènes naturelles .université henri poincarre, nancy .I.448p.

MULTON J ., LEPATRE F.,1984- Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries Agroalimentaires. Ed APRIA, Paris : 53 – 276p.

MULTON J. L., 1992- Le sucre, les sucres, les édulcorants et les glucides dans les I.A.A. Ed. Lavoisier, Paris, 264 p.

MULTON J.L et LEPATRE F.,1984- Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries Agroalimentaires. Ed APRIA, Paris : 53 – 276.

MUNIER, P., 1973- Le palmier dattier, Ed. MAISONNEUVE, Paris, 221 p.

NIELSON J-E., BORCHERT T-V ET VRIEND G., 2001- The determinant of -amylase pH activity profiles. Protein Engineering. Oxford University Press. 14(7), p: 505-512.

NIGAM P. AND SINGH D., 1995- Enzymes and microbial systems involved in starch processing; Enzyme Microb. Technol. 17(9):770-778.

NISHIDE T., NAKAMURA Y., EMI M., YAMAMOTO T., OGAWA M., MORI, T., MATSUBARA, K., 1986- Primary structure of human salivary alpha-amylase gene. Gene, 41, 299-304.

NOUADRI T. 2011- L'α-amylase de *Penicillium camemberti* PL21: Production, Purification, Caractérisation et Immobilisation. Diplôme de Doctorat. Université Mentouri, Constantine.143p.

NOUI Y., 2007- Caractérisation physico-chimique comparative des d eux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Thèse de Magister spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès. 62 p.

OTENG-GYANG K., 1984- Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Technique & Documentation Lavoisier, Paris. 8, p : 43-51 Cité par BENAOUIDA K., 2008- Etude de l'alpha amylase de levure isolée d'un écosystème extrême (sole environnant des sources thermales) et cultivées sur un milieu à base de lactosérum. Diplôme de magistère. Université MANTOURI Constantine. 100p.

- OULD EL HADJ M. D., BITOUR Z., SIBOUKEUR O., 2006- étude de la production de levure boulangère (*saccharomyces cerevisiae*) cultivée sur mout de rebuts de dattes. courrier du savoir. n°07: 13-18
- PANCHAL C., 1990- Yeast strain selection. Marcel Dekker (ed.) USA. 189p.
- PARK C.S., CHANG C.C., KIM J.Y., OGRYDZIAK D.M et RYUI D.D.Y., 1997- Expression, secretion, and processing of rice Alpha-amylase in the yeast *Yarrowia lipolytica*. - J. Biol. Chem., 272(11):6876-6881.
- REFICE Z. ABDELKRIM S. MESSAOUDI S., 2011- Optimisation d'un milieu de culture à base de datte pour la production de levure boulangère «*Saccharomyces cerevisiae*» et le dénombrement de la flore fongique. Diplôme d'Ingénieur d'Etat : Biologie. Université MOHAMED KHIDER: Biskra. 112p.
- REFICE Z., ABDELKRIM S., MESSAOUDI S., 2011- Optimisation d'un milieu de culture à base de datte pour la production de levure boulangère «*Saccharomyces cerevisiae*» et le dénombrement de la flore fongique. diplôme d'Ingénieur. Contrôle de Qualité et Analyses. Biskra. Université Mohamed Khider.79p.
- REZKI-BEKKI M., 2014- production de métabolite par les levures : caractérisation et identification des arômes et des alcools. Thèse doctorat biotechnologie. Université d'Oran. 161 P.
- SACI A., 2012- Production d'alpha-amylase par *Streptomyces* sp. Optimisation d'un milieu de production à base de déchets d'orange. thèse magister. Gestion des Déchets : Evaluations et Solutions environnementales. Constantine. Université Mentouri. 92p.
- SATYANARAYANA T., GOTTHARD K., 2009 -Yeast Biotechnology: Diversity and Applications., New Delhi. 744p.
- SAVCHEKO A., VIEILLE C., KANG S & ZEIKUS J-C., 2002- *Pyrococcus* -amylase is stabilised by calcium and zinc .Department of biochemistry and molecular biology. University east Lausing. 111-123.
- SBIAI A., 2011- matériaux composites a matrice epoxyde chargée par des fibres de palmier dattier : effet de l'oxydation au tempo sur les fibres. thèse doctorat Matériaux Polymères. Ecole doctorale Matériaux de Lyon.251p.
- SCHOMBURG D et SALZMANN M., 1991- Enzyme Hand book 4. Classe 3: Hydrolases. Springer-Verlag (ed). Berlin Heidelberg. Germany. p: 1-12.cité par BENAOUIDA K. 2008.
- SIBOUKEUR O., OULD EL HADJ M.D. ET ZARGAT F., 2001- Contribution à l'Etude de la Production d'Acide Citrique par *Aspergillus niger* Cultivée sur Moût de Dattes de la

Variété Ghars. Rev. Energ. Ren. Production et Valorisation – Biomasse, 93-96.

SIBOUKEUR, O., 1997- Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. Thèse Magister, INA. El-Harrach. Alger. 106 p.

SID-AHMED SOFIANE KHELIL ET BOUALEM BENHADJ- TAHAR., 1998-Valorisation du lactosérum en vue de fabrication de levure de boulangerie *Saccharomyces Cerevisiae*. p 3-7-13-16-35-38.cité par BOURAS H., BOUREGA A., KHINECHE S., 2006- influence des facteurs physiologiques et nutritionnels sur la production de la biomasse microbienne (levure boulangère). mémoire. biochimie. ouargla. université de kasdi merbah. 78p.

SRINIVASA R M. REDDY G. VENKATESWARA Rao G and SAMBASIVA R. R.S.,2004- Studies on the extraction and characterisation of thermostable α -amylase from pericarp of *Borassus indica*. African Journal of Biotechnology. 4: 289-291.

SRINIVASA RAO M., REDDY G., VENKATESWARA RAO G and SAMBASIVA RAO K. R.S.,2004- Studies on the extraction and characterisation of thermostable α -amylase from pericarp of *Borassus indica*. African Journal of Biotechnology., 4: 289-291.

STEFANOVA M ., EMANUILOVA E.,1992- Caracterization of a thermostable α -Amylase from *Bacillus brevis* . Eu . J. Biochem., 207(1).345-349p.

TANTAOUI EL ARAKI A., 2005- biotechnologies et agro-alimentaire au Maroc. Biotechnologies et sécurité alimentaire. 5p.

TATSINKOU F.B., TAVEAI F., NDJOUENKEUI R., 2005- Production and partial characterisation of a thermostable amylase from ascomycetes yeast strain isolated from starchy soils. African Journal of biotechnology. 4(1), p: 14-18.

TIBOR DEAK., 2007- Handbook of food spoilage yeasts. 2nd Ed. DNLM. New York. 350P.

TIBOR DEAK., 2008- FOOD SPOILAGE YEASTS. Second edition. CRC. Press. 350p.

TONELLI N., GALLOUIN F., 2013- Des fruits et des graines comestibles du monde.2^{ème} édition, lavoisier SAD. paris.227p

TORALBALLA G AND EITINGON M..1967- Action of Urea and Certain Other Amide Reagents on Crystalline Porcine Pancreatic Amylase, Arch Biochem Biophys. p :119- 519.

TRICOLI, J., SHOWS, T., 1984- Regional assignment of human amylase to of Chromosome 1 Somatic Cell and Molecular Genetics, 10: 205-210 .

UITDEHAAG J.C.M., MOSI R. KALK K. H., VANDER VEEN B. A. DIJKUIZEN L., WITHERS S.G ET DIJKSTRA B.W., 1999- X-ray structure along the reaction pathway of cyclodextrin glycosyltransferase elucidate catalysis in the amylase family. Nat. Struct. Biol. 6, p : 432-436.

ULRICH M., 2013- Valorisation des dattes non comestibles en Algérie. coopération

allemande :1-15.

WALDRON K., 2010- bioalcohol production: biochemical conversion of lignocellulosic biomass. woodhead publishing limited and CRC press LLC, cornwall. 467p.

ZOUAOUI N., 2012- Effet des poly phénols sur la résistance à l'infestation fongique dans le grain de blé dur. Thèse magister. Biotechnologie Alimentaire. CONSTANTINE. UNIVERSITE MENTOURI .133p.

ZOUBIRI L., 2012- production d'alpha amylase par des moisissures cultivées sur milieu à base de rebuts de dattes. thèse magister. biotechnologie alimentaire. constantine. universite mentouri.104p.

Annexes

Annexe 1

❖ Milieux de culture

▪ Potato Dextrose Agar (PDA)

Extrait de pomme de terre1000ml

Glucose20g

Agar..... 20g

Préparation de l'extrait de pomme de terre:

200g de pomme de terre non pelées et veille, sont lavés et coupés en petits dés, ensuite mis dans un litre d'eau distillée et portés à ébullition pendant 1 h. Ils sont enfin écrasés, filtrer. Compléter à un litre d'eau distillée.

Préparation du milieu:

L'agar et Le Glucose sont dissous à chaud dans l'extrait. Compléter à un litre d'eau distillée, ajuster le pH à 5 et stériliser à 110°C, pendant 30 min.



Figure: préparation du milieu PDA

Annexe 2

❖ Dosage des sucres totaux

Réactifs:

- Phénol 5 % dans l'eau distillée.
- Acide sulfurique concentré à 95% de pureté et de densité $d = 1,84$

Protocole :

- Ajouter à 1 ml d'échantillon, 1 ml de phénol et 5 ml d'acide sulfurique concentré. Agiter et laisser reposer 10min à température ambiante.
- Incuber au bain marie à 30°C pendant 20 min.

- Mesurer la coloration jaune orangé à 488 nm, les valeurs obtenues sont traduites en concentrations de glucose par référence à une courbe d'étalonnage préalablement établies.

Annexe 3

❖ Dosage de l'activité α -amylasique

Réactifs pour le dosage de l'amidon

- Solution d'amidon à 2mg/ml.
- Réactif de l'iode : 0.2 g d'I₂ dissous dans 100 ml de KI à 2 % dans 0.1 N HCl.
- 1M HCl.

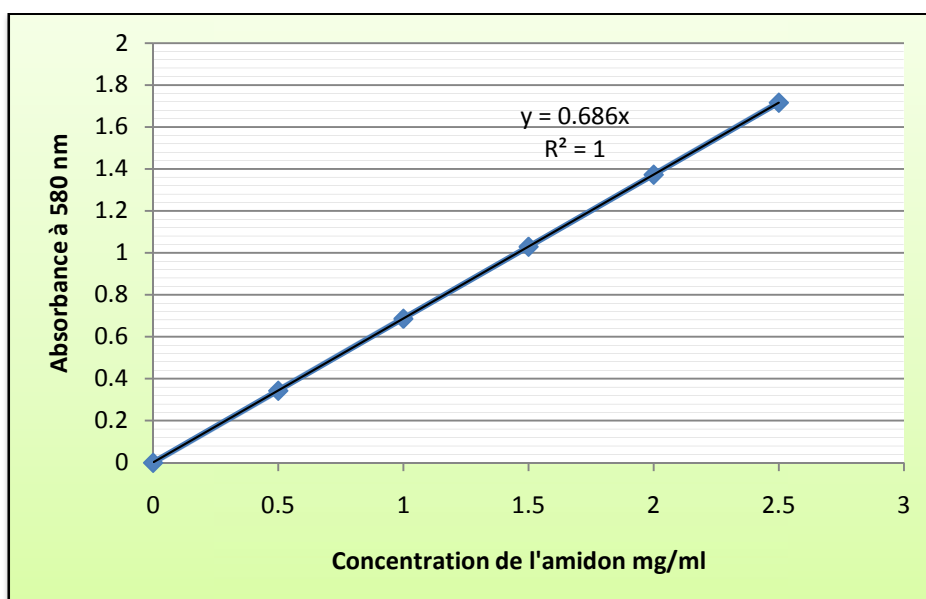


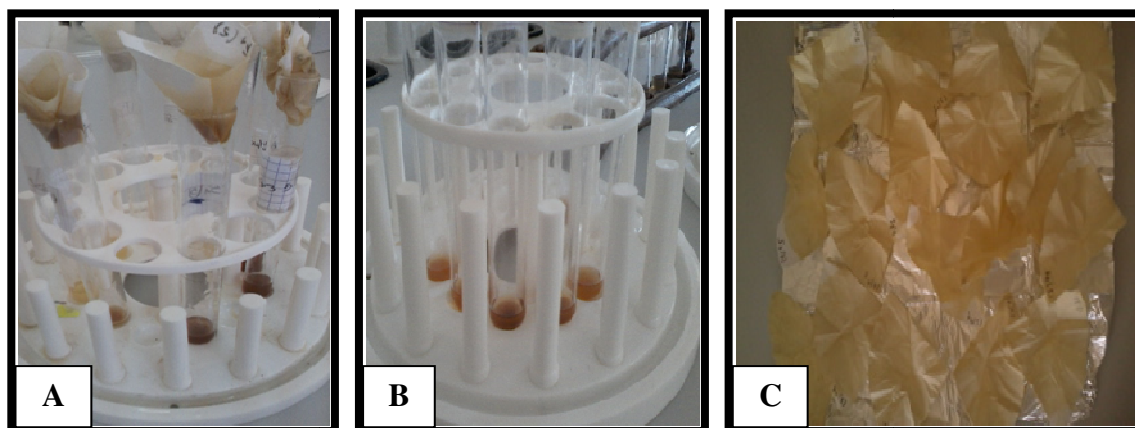
Figure : la courbe d'étalonnage d'amidon



Figure : dosage de l'activité amylasique.

Annexe 4

❖ Biomasse



A: Filtration, B: Extrait enzymatique, C: Papier sèche

Figure: mesure de biomasse.

Annexe 5



Figure: flacon à vise contenant le support de culture (sirop de datte) au cours la fermentation.

Annexe 6

Tableau: résultat de pH de milieu, biomasse et L'activité amylasique au cours la fermentation.

jour	pH			Biomasse (g/l)			L'activité amylasique (µg/ml/h)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
S1	4.51	4.06	4.30	38	34	42	1379.01	1059.77	1444.61
S2	4.48	4.17	4.25	42	32	38	1300.29	1339.65	1418.37
S3	4.49	4.52	4.42	40	32	38	1682.22	1252.19	1434.40
S4	4.50	3.99	4.52	36	28	42	1348.40	1293.00	1250.73
S5	4.48	4.28	4.28	40	34	48	1483.97	1190.96	1430.03
S6	4.49	4.20	4.26	26	26	42	1275.51	1212.83	1379.01

Tableau: les résultats d'optimisation de biomasse et l'activité amylasique de six souches étudiées les différents milieux de pH (4, 7 et 8).

		Jour	S1	S2	S3	S4	S5	S6
pH	pH : 4	1	3,93	3,98	3,99	4,02	3,95	4,00
		2	3,74	3,38	3,52	3,60	3,62	3,95
		3	3,97	3,82	3,90	3,77	3,86	3,73
	pH : 7	1	5,18	5,23	5,24	5,23	5,21	5,23
		2	4,88	5,04	5,10	4,75	4,90	4,98
		3	5,12	4,88	5,00	5,08	4,16	5,01
Biomasse (g/l)	pH : 8	1	5,25	5,27	5,24	5,41	5,22	5,18
		2	4,94	5,30	5,02	4,90	5,00	5,15
		3	4,13	5,10	4,09	4,10	4,15	5,02
	pH : 4	1	38	42	28	44	38	40
		2	36	38	26	36	36	42
		3	38	38	48	48	38	40
	pH : 7	1	36	28	40	36	28	30
		2	32	36	26	38	38	38
		3	46	34	38	36	36	40
	pH : 8	1	50	36	22	40	44	34
		2	46	28	34	36	30	38
		3	42	32	28	28	22	24
L'activité amylasique (µg/ml/h)	pH : 4	1	1349.85	1491.25	1405.25	1430.03	1346.94	1502.92
		2	1218.66	1189.50	1126.82	1301.75	1281.34	1154.52
		3	1336.73	1397.96	1438.78	1379.01	1373.18	1303.21
	pH : 7	1	1323.62	1266.76	1062.68	1040.82	1285.71	1402.33
		2	1252.19	1228.86	1335.28	1240.52	1440.23	1376.09
		3	994.17	1303.21	1399.42	1223.03	1225.95	1325.07
	pH : 8	1	1196.79	775.51	954.81	1199.71	1048.10	1179.30
		2	886.30	532.07	320.70	1021.87	842.57	1209.91
		3	1215.74	1164.72	947.52	1182.22	1153.06	1504.37

Tableaux: les résultats d'optimisation de biomasse et l'activité amylasique de six souches étudiées avec des concentrations d'amidon différents (15, 20 et 25 g/l).

		Jour	S1	S2	S3	S4	S5	S6
pH	A	1	4,81	4,81	4,02	4,79	4,65	4,57
		2	4,70	4,64	4,66	4,63	4,66	4,58
		3	4,50	4,56	4,55	4,56	4,55	4,66
	B	1	4,71	4,70	4,67	4,67	4,63	4,57
		2	4,60	4,64	4,68	4,64	4,61	4,66
		3	4,37	3,64	4,57	4,45	4,51	4,57
	C	1	4,19	4,85	4,66	4,79	4,85	4,76
		2	4,80	4,81	4,79	4,85	4,80	4,79
		3	4,37	4,66	4,69	4,57	4,66	4,63
Biomasse (g/l)	A	1	42	54	36	34	34	28
		2	38	32	26	28	32	32
		3	36	40	36	32	24	30
	B	1	24	34	34	28	26	34
		2	42	32	42	40	40	54
		3	28	16	36	32	26	38
	C	1	32	42	28	38	26	36
		2	38	34	38	50	40	24
		3	36	24	26	38	28	32
L'activité amylasique (µg/ml/h)	A	1	912.54	956.27	909.62	935.86	886.30	839.65
		2	844.02	1018.95	931.49	994.17	833.82	1100.58
		3	1225.95	1217.20	1164.72	1179.30	1053.94	1100.58
	B	1	912.54	876.09	820.70	877.55	823.62	886.30
		2	804.66	1540.82	728.86	793.00	943.15	1051.02
		3	1263.85	281.34	1274.05	1148.69	1241.98	1122.45
	C	1	1208.45	1260.93	1249.27	1233.24	1247.81	1249.27
		2	957.73	985.42	1007.29	1058.31	1061.22	1126.82
		3	1357.14	1526.24	1534.99	1387.76	1489.80	1577.26