

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

Université de RELIZANE
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département :Sciences agronomiques



جامعة غليزان
RELIZANE UNIVERSITY

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en :
Agroalimentaire et contrôle de qualité

Intitulé

Recherche et identification des levures à partir de miel et datte

Présenté par :

_ BELGHOUL mohamed

_ ADJAL Abdelaziz

Devant les membres de jury :

Président : Dr Hartani Ahmed

Maître de conférence (A) (U. Relizane)

Examineur : Dr Benada m'hamed

Maître de conférence (A) (U. Relizane)

Encadreur : Dr Hadri zouheyr

Maître de conférence (A) (U. Relizane)

Co-Encadreure : Mlle Benghaffour hiba

Doctorante (U. Relizane)

Année universitaire : 2023/2024

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, Leur amour, tendresse, soutien et prières Tout au long de mes études,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long De mon parcours universitaire, Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués

Et le fruit de votre soutien infaillible, Merci d'être toujours là pour moi.

A mon binôme Abdelaziz

A mes très chères amis:

Karim, Ouzar, Djalal, Fethi, Souleymane, Hichame.....

et la liste reste longue.

A tous les membres de ma promotion, à qui je souhaite bonheur et réussite.

Mes enseignants du primaire à l'université et je n'oublie pas les laborantins qui nous donnent un coup de main et nous fournissent tous les outils nécessaires. Merci du fond du cœur et je leur souhaite beaucoup de succès dans leur travail.

BELGHOUL Mohamed

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce

Travail que je dédie :

A mes chers parents que je remercie pour être toujours à mes côtés.

A mon binôme Mohammed

A tous ce qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail.

A tous les membres de ma promotion.

A mes enseignants à l'université merci et merci aux laborantins qui ont été fidèles à leur travail et nous ont fourni des installations tout au long des deux mois que nous avons passés avec eux. Merci beaucoup. Cette note a été un hommage à votre fatigue et à votre fatigue avec vous.

ADJAL Abdelaziz

Remerciement

Nous remercions Allah tout puissant de nous avoir donné la volonté et le courage de mener à bien ce travail.

Nous exprimons notre sincère gratitude envers Dr Hadri zouheyr, notre encadreur, pour ses conseils inestimables, son orientation éclairée et ses compétences précieuses tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous remercions également Mlle Benghaffor Hiba, notre co-encadreur pour tous les efforts fournis et pour son aide précieuse.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements aux membres du jury pour l'honneur qu'ils nous accordent en acceptant d'évaluer notre travail et en le nourrissant de leurs précieuses suggestions.

Nous remercions aussi les techniciens et les laborantines de laboratoire pédagogique et l'ensemble des administrateurs de Département des sciences agronomiques et Tous ceux qui nous ont aidé, de près ou de loin, à mener à bien ce travail

Résumé

Le miel et les dattes, deux aliments sucrés et naturels, peuvent contenir des levures sauvages. Dans cette étude, des levures ont été identifiées à partir de miel d'eucalyptus, de miel d'orange, de miel de sidr, de dattes Deglette-nour et de Mech-degla (*Zygosaccharomyces rouxii*, *Rhodotorella mucilaginosa*, *Rhizopus stolonifer*). Le taux d'inhibition de *Zygosaccharomyces rouxii* contre *Penicillium digitatum* est de 50% après 24 heures, diminuant à 23% après 72 heures. Pour *Aspergillus niger*, l'inhibition est de 50% à 24 heures, augmentant à 60% à 48 heures. Concernant *Rhizopus stolonifer*, l'inhibition est de 56% à 24 heures, chutant à 5% à 72 heures. L'effet inhibiteur de *Rhodotorella mucilaginosa* contre *Penicillium digitatum*, *Aspergillus niger* et *Rhizopus stolonifer* est de 50%, 65 % et 28% respectivement après 24 heures, diminuant à 13%, 0% et 13% après dernier jour. Enfin, *Kluyveromyces marxianus* montre une inhibition de 50% à 24 heures contre *Penicillium digitatum* et augmentant à 69% après 48 heures est diminué de 38% après 96 heures, tandis que pour *Aspergillus niger*, l'inhibition est de 50% après 24 heures est diminué de 0% après 72 heures. En ce qui concerne *Rhizopus stolonifer*, l'inhibition est de 86% à 24 heures et reste à 88% après 72 heures. Dans l'effet antibactériens, il y a aucun effet observé sur *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, mais une inhibition remarquée contre *Escherichia coli*, avec une zone d'inhibition de 4,5 cm après 72 heures pour *Zygosaccharomyces rouxii*. *Rhodotorella mucilaginosa* a montré une inhibition avec zone d'inhibition de 1,2 cm contre *Staphylococcus aureus* après 72 heures, mais aucun effet sur *Staphylococcus epidermidis* et *E. coli*. *Kluyveromyces marxianus* seule a montré une inhibition contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 12 mm. Brièvement, la levure est un élément naturel du miel et des dattes, pouvant influencer positivement leur gout et texture.

Mots clés : Miel, dattes, levures, activité antifongique, activité antibactérienne, inhibition

Abstract

Honey and dates, two sweet, natural foods, can contain wild yeasts. In this study, yeasts were identified from eucalyptus honey, orange honey, sidr honey, Deglette-nour dates and Mech-degla. The inhibition rate of *Zygosaccharomyces rouxii* against *Penicillium digitatum* was 50% after 24 hours, dropping to 23% after 72 hours. For *Aspergillus niger*, inhibition was 50% at 24 hours, rising to 60% at 72 hours. For *Rhizopus stolonifer*, inhibition was 56% at 24 hours, dropping to 5% at 72 hours. The inhibitory effect of *Rhodotorella mucilaginosa* against *Penicillium digitatum*, *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer* was 50%, 65% and 28% respectively after 24 hours, decreasing to 13%, 0% and 13% after last day. Finally, *Kluyveromyces marxianus* showed 50% inhibition at 24 hours against *Penicillium digitatum* and increasing to 69% after 48 hours is decreased by 38% after 96 hours, while for *Aspergillus niger* inhibition is 50% after 24 hours and decreases to 0% after 72 hours. For *Rhizopus stolonifer*, inhibition was 86% at 24 hours and 88% at 72 hours. In terms of antibacterial effects, no effect was observed on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, but inhibition was noted against *Escherichia coli*, with a zone of inhibition of 4.5 cm after 72 hours for *Zygosaccharomyces rouxii*. *Rhodotorella mucilaginosa* showed inhibition with an inhibition zone of 1.2 cm against *Staphylococcus aureus* after 72 hours, but no effect on *Staphylococcus epidermidis* and *E. coli*. *Kluyveromyces marxianus* alone showed inhibition against *Staphylococcus aureus* with a zone of inhibition of 12 mm. Briefly, yeast is a natural component of honey and dates, and can have a positive influence on their taste and texture.

Keywords: Honey, dates, yeasts, antifungal activity, antibacterial activity, inhibition

ملخص

يمكن أن يحتوي العسل والتمر، وهما نوعان من الأطعمة الطبيعية الحلوة، على خمائر برية. في هذه الدراسة، تم التعرف على الخمائر من عسل الأوكالبتوس وعسل البرتقال وعسل السدر وتمر دقلة نور وتمر الميك دقلة. كان معدل تثبيط *Zygosaccharomyces Rouxii* ضد *Penicillium digitatum* 50% بعد 24 ساعة، وانخفض إلى 23% بعد 72 ساعة. بالنسبة إلى *Aspergillus niger*، كان معدل التثبيط 50% بعد 24 ساعة، وارتفع إلى 60% بعد 72 ساعة. بالنسبة *Rhizopus stolonifer* كان التثبيط 56% بعد 24 ساعة، وانخفض إلى 5% بعد 72 ساعة. كان التأثير المثبط لـ *Rhodotorella mucilaginosa* ضد *Penicillium digitatum* و *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolonifer* 50% و 65% و 28% على التوالي. وأخيراً، أظهر *Kluyveromyces marxianus* تثبيطاً بنسبة 50% خلال 24 ساعة ضد *Penicillium digitatum* وترتفع إلى 69% بعد 48 ساعة و ينخفض بنسبة 38% بعد 96 ساعة ، اما بالنسبة *Aspergillus niger* يصل التثبيط إلى 50% بعد 24 ساعة وينخفض إلى 0% بعد 72 ساعة. بالنسبة *Rhizopus stolonifer* ، كان التثبيط 86% عند 24 ساعة و 88% عند 72 ساعة. وفيما يتعلق بالتأثيرات المضادة للبكتيريا، لم يلاحظ أي تأثير على *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermidis* ، ولكن لوحظ تثبيط ضد *Escherichia coli* ، حيث بلغت منطقة التثبيط 4.5 سم بعد 72 ساعة بالنسبة *Zygosaccharomyces rouxii* . أظهرت خميرة *Rhodotorella mucilaginosa* تثبيطاً مع منطقة تثبيط قدرها 1.2 سم ضد *Staphylococcus aureus* بعد 72 ساعة، ولكن لم يكن لها تأثير على *Staphylococcus epidermidis* و *Escherichia coli* . وأظهر *Kluyveromyces marxianus* وحده تثبيطاً ضد *Staphylococcus aureus* مع منطقة تثبيط تبلغ 12 مم.

الكلمات المفتاحية : العسل، التمر، الخمائر، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للبكتيريا، التثبيط

Liste des abréviations

pH : Potentiel hydrique

F.A.O: Food and Agriculture Organisation.

S.aureus : Staphylococcus aureus

KNO₃ : Nitrate de potassium (KNO₃)

T : La croissance radiale en mm

I : Taux d'inhibition en %

S.epidermidis : Staphylococcus epidermidis

ml : Mililitre

T° : Température.

Min : Minutes

V.F : Viande Foie

% : Pourcentage.

g : Gramme.

YNB :Yeast nitrogène base

J: Jours

O₂ : Gaz dioxygène

H₂O₂ : Eau oxygénée

cm : Centimètre

µl : Microlitre

Table des matières

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	2
Chapitre I : Généralités sur les levures	
1 Définition	4
2 Habitat des levures	5
3 Morphologie et structure des levures.....	7
4 Classification des levures.....	8
5 Reproduction des levures.....	10
I.5.1 Reproduction végétative	10
5.2 Reproduction sexuée.....	10
5.2.1 Levures ascomycètes	10
5.2.2 Levures basidiomycètes	10
6 Caractéristiques physiologiques et biochimiques	10
7 Effet antimicrobien des levures.....	11
7.1 Effet antifongique	11
7.2 Effet antibactérien	11
Chapitre II : Miel et dattes	
Partie I : Le miel.....	13
1 Définition de miel.....	13
2 Classification de miel	13
2.1 Les miels mono-floraux	13
2.2 Les miels poly-floraux	14

2.2.1 Composition nutritionnelle du miel	14
2.2.1.1 Eau	16
2.2.1.2 Glucides	16
2.2.1.3 Acides Organiques	16
2.2.1.4 Acides Aminés et Protéines	16
2.2.1.5 Sels minéraux et Oligo-éléments	16
2.2.1.6 Lipides	16
2.2.1.7 Enzymes	17
2.2.1.8 Vitamines	17
2.2.2 Composition de miel	17
2.2.2.1 Composés phénoliques	17
3 Propriétés du miel	19
3.1 Propriétés organoleptiques	19
3.1.1 La couleur	20
3.1.2 L'odeur	20
3.1.3 Le goût	20
3.1.4 La teneur en proline des miels	20
4 Propriétés physico-chimiques	21
4.1 pH	22
4.2 Conductivité électrique	22
5.2.3 HMF (hydroxymethylfurfural)	22
5 Propriétés fonctionnelles du miel	22
5.1 Propriétés antimicrobiennes	22
5.1.1 Les microorganismes rencontrés dans le miel	23
5.1.1.1 Moisissures	23
5.1.1.2 Levures	23
5.1.1.3 Bactéries et spores bactériennes	24

5.2 Propriétés anti oxydantes du miel.....	24
6 Effets anti-inflammatoires et thérapeutiques.....	24
PARTIE II: Les Dattes	25
1 Description des dattes	25
2 Variétés des dattes en Algerie	25
2.1 Description botanique des dattes.....	26
3 Classification des dattes.....	26
4 Stades de maturité	26
5 Composition biochimique de la datte.....	27
5.1 Composition biochimique de la partie comestible "pulpe"	27
5.1.1 Eau.....	27
5.1.2 Glucides	27
5.1.3 Protéines.....	27
5.1.4 Lipides	28
5.1.5 Valorisation nutritionnelle.....	28
6 Caractéristiques physico-chimiques des dattes	28
6.1 Teneur en eau	28
6.2 pH.....	28
6.3 Les sucres.....	28
6.4 Les fibres alimentaires	29
6.5 Les protéines	29
6.7 Les lipides	29
6.8 Minéraux.....	29
7 La flore microbienne des dattes	29
 Chapitre III: Matériels et méthodes	
1 L'objectif de travail	32
2 Matériels et Méthodes	32
2.1 Matériels et produits chimiques	32

2.2 Matériels biologiques.....	34
3 Méthodes.....	35
3.1 Isolement des levures à partir des dattes.....	35
3.1.1 Le choix de milieu de culture.....	35
3.1.2 Préparation de mout des dattes.....	35
3.1.3 Délutions et ensemencement.....	36
3.2 Isolement des levures à partir du miel.....	36
3.2.1 Préparation de la solution mère.....	36
3.2.2 Préparation des dilutions décimales.....	37
3.2.3 Recherche et dénombrement des levures et des moisissures (AFNOR 08- 059-1995).....	37
3.2.3.1 Principe.....	37
3.2.3.2 Mode opératoire.....	37
4 Identification des levures.....	37
4.1 Examen macroscopique.....	37
4.2 La purification.....	37
5 Identification biochimique.....	38
5.1. Assimilation des sources carbonées.....	38
5.2 Assimilation des sources azotées.....	38
6 Etude des caractères physiologiques.....	38
6.1 Résistance de l'actidione sur milieu Sabouraud.....	38
6.2 Test de formation des pseudohyphes (pseudofilamentation).....	38
6.3 Test de blastèse.....	39
7 Etude de type respiratoire.....	39
8 Etude de l'activité antifongique.....	40
8.1 Isolement et identification des agents pathogènes.....	40
8.2 Identification des moisissures.....	40
8.2.1 Examen macroscopique.....	40
8.2.2 Examen microscopique.....	41
8.3 Evaluation de l'activité antifongique des levures vise à vis des moisissures isolées.....	41

8.3.1 Méthode de double culture.....	41
8.3.2 Calcul de taux d'inhibition	41
9 Etude de l'activité antibactérienne.....	43
9.1 Isolement des Bactéries à partir de viande Hachée et poulet Hachée.....	43
9.1.1 Milieu de culture sélectifs	43
9.1.1.1 Ensemencement sur milieu Chapman	43
9.1.1.2 Ensemencement sur milieu Mac Conkey	44
9.1.1.2.1 Identifications des bactéries	44
9.1.1.2.2 Identification biochimique.....	44
9.2 Evaluation de l'activité antibactériennes des levures vise à vis les bactéries isolées.....	45
9.2.1 La méthode des disques	45
Chapitre IV: Résultats et discussions	47
1 Identification des levures	47
1.1 Aspect Macroscopique.....	47
1.2 Aspect Microscopique des dattes	50
2 Etude des caractères physiologique	51
2.1 physiologiqueTest de filamentation.....	51
2.2 La résistance à l'actidione.....	51
2.3 Type respiratoire.....	51
2.4 La résistance à la température	52
3 Identification Biochimique	52
3.1 Assimilation des sources Azotées.....	52
3.2 Assimilation des sources carbonées	52
4 Discussion	54
4.1 Identification principaux levures.....	54
4.2 Résultats d'Effet antifongique.....	54
4.2.1 Identification des Moisissures	54
4.2.2 Résultats de Méthode de contact directe.....	59

4.3 Résultats de l'étude de l'effet antibactérien	62
4.3.1 Identification des souches bactériennes	62
4.3.1.1 Sur milieu Mac Conkey	64
4.3.1.2 Coloration de Gram.....	65
4.3.1.3 Test Catalase.....	67
4.3.1.4 Test de coagulase.....	67
5 Résultats de l'activité antibactérienne.....	67

Conclusion

Références Bibliographiques

Annexe

Liste des figures

Figure 01 : La configuration typique d'une cellule de levure	4
Figure 02: Les morphotypes cellulaires de base	8
Figure 03: Principales flavonoïdes du miel	18
Figure 04: Principales acides phénoliques du miel	19
Figure 05: fruit du dattier	25
Figure 06: Stades de développement et maturation des dattes	27
Figure 07: Les variétés des dattes Deglet Nour et Mech degla	33
Figure 08: La situation géographique de Biskra	33
Figure 09: Situation géographique des Zones d'échantillonnage.....	34
Figure 10: Protocoles d'isolement et d'identification des levures	35
Figure 11: La solution mère et dilutions décimales	36
Figure 12 : Ensemencement des solutions mères et les dilutions	36
Figure 13: Protocole d'étude l'activité antifongique des levures vise à vis des moisissures.....	40
Figure 14: Schéma présentant la confrontation directe	42
Figure 15: Test de l'effet Antifongique par la méthode de contact direct.....	42
Figure 17: Aspect macroscopique des colonies des levures	49
Figure 18: aspect microscopique des colonies des levures (A) souche1 Gr ×25 (B)	50
Souche 2 Gr×25 (C) et(D) souche 3 Gr×40.....	50
Figure 19: Aspect macroscopique des colonies isolées d'échantillon 1 Citron.....	55
Figure 20: Aspect macroscopique des colonies isolées d'échantillon 2 Piment.....	56
Figure 21: aspect microscopique de colonie 1 citron.....	56
Figure 22 : Aspect microscopique de colonie 2 piment	57
Figure 23 : Aspect microscopique de colonie 3 citron	57
Figure 24: Effet antifongique de <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> vise à vis <i>Aspergillus niger</i> et <i>Penicillium digitatum</i> et <i>Rhizopus stolonifer</i> pendant 96 heures d'incubation	59
Figure 25: Effet antifongique de <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> vise à vis <i>Aspergillus niger</i> et <i>Penicillium digitatum</i> et <i>Rhizopus stolonifer</i>	59

Figure 26: Effet antifongique de <i>Rhodotorella mucilaginosa</i> visé à vis <i>Aspergillus niger</i> et <i>Penicillium digitatum</i> et <i>Rhizopus stolonifer</i> pendant 96 heures d'incubation	60
Figure 27: Effet antifongique de <i>Rhodotorella mucilaginosa</i> visé à vis <i>Aspergillus niger</i> et <i>Penicillium digitatum</i> et <i>Rhizopus stolonifer</i>	60
Figure 28: Effet antifongique de <i>Kluyveromyces marxianus</i> visé à vis <i>Aspergillus niger</i> et <i>Penicillium digitatum</i> et <i>Rhizopus stolonifer</i> pendant 96 heures d'incubation	61
Figure 29: Effet antifongique de <i>Kluyveromyces marxianus</i> visé à vis	61
<i>Aspergillus niger</i> et <i>Penicillium digitatum</i> et <i>Rhizopus stolonifer</i>	61
Figure 30: Aspect des bactéries sur le milieu Chapman Après le repiquage (A) <i>Staphylococcus aureus</i> (B) <i>Staphylococcus epidermidis</i>	63
Figure 31: Aspect macroscopique des colonies <i>E. Coli</i> sur le milieu Mac Conkey.....	65
Figure 32: Aspect microscopique des colonies des bactéries à Gram positive	66
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (B) <i>Staphylococcus Aureus</i> Gr X 100.....	66
Figure 33: Aspect microscopique des colonies des bactéries à Gram négative <i>E. coli</i> Gr X 100.....	66
Figure 34 : effet antibactérien de <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> (A) visé à vis <i>Staphylococcus aureus</i> (B) <i>E. coli</i> (C) visé à vis <i>Staphylococcus epidermidis</i>	68
Figure 35 : effet antibactérien de <i>Rhodotorella mucilaginosa</i> (A) visé à vis <i>Staphylococcus aureus</i> (B) <i>E. coli</i> (C) visé à vis <i>Staphylococcus epidermidis</i>	69
Figure 36 : effet antibactérien de <i>Kluyveromyces marxianus</i> (A) visé à vis <i>Staphylococcus aureus</i>	69

List des tableaux

Tableau 01 : Aperçu des principaux facteurs environnementaux qui influencent l'activité métabolique, la croissance et la survie des levures.....	6
Tableau 02 : Aperçu de la classification des levures	9
Tableau 03 : Composition moyenne du miel (Louveaux, 1980 ; Gonnet, 1991 ; Huchet et al., 1996 ; Codex alimentaire, 2001, Donadieu, 2003 ; Bogdanov et al., 2004a ; Ravazzi, 2014)	15
Tableau 04 : Principales propriétés du miel.....	21
Tableau 05 : Matériels utilisés.....	32
Tableau 06 : Les variétés des dattes choisis.....	32
Tableau 07 : Des informations relatives aux échantillons de miel	34
Tableau 08 : Description des colonies de levures trouvées dans le miel.....	47
Tableau 09 : colonies des levures présentes dans les dattes variétés Deglette- Nour et Mech-Degla	48
Tableau 10 : Description de l'aspect microscopique des colonies des dattes	50
Tableau 11 : caractéristiques des levures isolées dans le miel et des dattes	53
Tableau 12 : Aspect macroscopique des colonies des moisissures piment.....	54
Tableau 13 : Aspect Microscopique des colonies des moisissures citron.....	55
Tableau 14 : Description des colonies observées sur le milieu Chapman.....	62
Tableau 15 : Description des colonies observées sur le milieu Mac conkey	64
Tableau 16 : Résultat de Test de catalase.....	67
Tableau 17 : Résultat de Test de coagulase.....	67
Tableau 18 : zone d'inhibition en cm après 72h d'incubation.....	67
Tableau 19 : Résultats de l'activité antibactérienne.....	68

Introduction

Introduction

Les bactéries et les champignons ont adopté des stratégies de défense contre les antimicrobiens et ont acquis une résistance aux Antibiotiques .

Selon **Daurel et Leclercq (2008)**, environ 80 à 95 % des souches de *Staphylococcus aureus* génèrent une pénicillinase qui inactive les β -lactamines, telles que la pénicilline G et l'ampicilline, ce qui rend leurs utilisations obsolètes dans le contexte des infections à *Staphylococcus aureus*. Les souches résistantes d'*Escherichia coli* ont développé une résistance aux antibiotiques et produisent des β -lactamases à spectre étendu, ce qui a suscité une inquiétude grandissante ces dernières années, en raison des options thérapeutiques limitées en cas d'infection par ces souches (**Baum et Marre, 2005**).

Certaines espèces de levures produisent des toxines, ce qui les rend dangereuses. Ces levures ont la capacité d'empêcher la prolifération d'autres souches de levures et possèdent également des propriétés antimicrobiennes qui empêchent la formation de moisissures et de bactéries (**Li et al., 2012**). Les levures tueuses sont présentes de manière naturelle dans les légumes et les fruits et ont un effet inhibiteur sur la prolifération d'autres microorganismes. En outre, les levures, ayant démontré leur activité tueuse lors de la fabrication de bière, de vin et de conservation des aliments, ont la capacité de lutter contre les micro-organismes nuisibles (**Lim et Tay, 2011**).

Plusieurs recherches ont été menées sur l'isolation de levures ayant des propriétés antimicrobiennes dans la littérature. Leur histoire a commencé sérieusement avec les résultats de Bevan et Makover en 1963 et continue aujourd'hui (**Polonelli et al., 1991 ; Schmitt et Breinig, 2002 ; Izgu et al., 2004 ; Xianghong et al., 2007 ; Hernandez et al., 2008 ; Polonelli et Conti, 2009**).

L'objectif principal de cette étude est de faire un isolement des levures à partir du miel et des dattes. Le second objectif consiste à étudier l'effet antimicrobien des levures isolées.

Chapitre I

Généralités sur les levures

Chapitre I : Généralités sur les levures

I.1 Définition

Les levures, en anglais "yeast" et ses équivalents dans de nombreuses autres langues sont basés sur des mots signifiant mousse et lever, faisant référence directe aux processus de fermentation donnant de la bière et du pain (**Kurtzman, 1998**). C'est des champignons microscopiques, qui sont caractérisées par leur état permanent ou dominant. En tant qu'eucaryotes, elles se distinguent totalement des bactéries, qui appartiennent aux procaryotes. De plus, les levures présentent une résistance aux antibiotiques, aux sulfamides et à d'autres agents antibactériens (**Montes de Oca et al., 2016**).

Les levures, étant des microorganismes non photosynthétiques, sont chimio- hétérotrophes, ce qui signifie qu'elles obtiennent leur nutrition en dégradant diverses substances organiques (**Hencke, 2000**). Le bourgeonnement est la méthode de reproduction végétative la plus courante chez les levures. On peut également rencontrer un autre mode de reproduction végétative : la fission, qui est propre au genre *Schizosaccharomyces* (**Labhani, 2016**). À ce jour, environ 1500 variétés de levures ont été identifiées (**Phale, 2018**).

Les levures peuvent être distinguées et décrites en utilisant divers critères, notamment la morphologie cellulaire (mode de division, forme des spores, etc.), la physiologie cellulaire (tests de fermentation des sucres, etc.), l'immunologie (par exemple, l'immunofluorescence) et la biologie moléculaire (comme le polymorphisme de longueur des fragments d'amplification). Les taxonomistes ont de plus en plus recours à l'analyse des séquences moléculaires pour classer de nouvelles espèces (**Boekhout et al., 2003**). La figure I.1, montre la structure générale d'une cellule de levure.

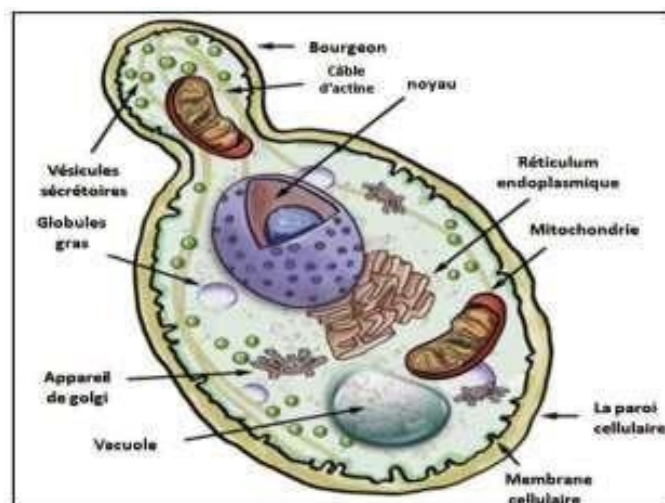


Figure 01 : La configuration typique d'une cellule de levure (**Speers et al., 2015**).

I.2 Habitat des levures

La présence et la variété des levures dans les milieux naturels et humains sont influencées par divers facteurs abiotiques et biotiques, qui varient souvent dans l'espace et le temps (voir Tableau 1). Ces facteurs, qui limitent la croissance, interviennent généralement ensemble et simultanément, s'influencent mutuellement, ce qui rend parfois difficile la prédiction de leurs interactions (**Boekhout *et al.*, 2003**). De plus, des phénomènes à grande échelle tels que le climat et la biogéographie se traduisent par des modifications des facteurs abiotiques et biotiques (par exemple, la température, l'humidité, le rayonnement solaire, la composition du sol, la végétation et les vecteurs animaux) (**Sérgio Luiz, 2022**).

Parmi toutes les espèces de levures trouvées dans un habitat donné, il est important de distinguer celles qui sont des composantes essentielles de la communauté de celles qui sont des membres transitoires (**Lachance *et al.*, 1998**).

De plus, tandis que certaines espèces de levures sont des généralistes ubiquistes qui occupent une large gamme géographique et peuvent vivre dans différents habitats, d'autres espèces semblent avoir une distribution plus restreinte (**Péter *et al.*, 2017**).

Tableau 01 : Aperçu des principaux facteurs environnementaux qui influencent l'activité métabolique, la croissance et la survie des levures (Sérgio Luiz, 2022).

Facteur	Description
Température	La température influence la croissance des levures et le temps de génération. La plupart des levures sont mésophiles et se développent mieux entre 20 et 30 °C. Certaines espèces, principalement des pathogènes des animaux à sang chaud, peuvent se développer à 37 °C. Les rares espèces de levures capables de croître à 48-50 °C sont considérées comme thermotolérantes, plutôt que véritablement thermophiles. Les températures supérieures à 50 °C sont généralement létales pour les cellules de levure végétatives. La limite inférieure de température de croissance pour certaines espèces psychrotolérantes peut descendre en dessous de 0 °C, si l'eau reste liquide (par exemple, dans l'eau de mer salée).
Lumière et rayonnement solaire	Les levures ne réalisent pas de photosynthèse, donc elles n'ont pas besoin de lumière pour survivre. Cependant, le rayonnement ultraviolet peut leur être fatal.
Pression	Dans des conditions naturelles, la pression atmosphérique normale n'affecte pas la croissance des levures. Cependant, dans les profondeurs marines et certains processus industriels, les cellules de levure doivent résister à des pressions élevées.
Potentiel hydrique	La disponibilité en eau, généralement exprimée sous forme d'activité de l'eau, est un facteur important qui influence la croissance des levures. La plupart des levures peuvent bien se développer à des activités de l'eau de 0,95 à 0,90. Seules quelques espèces de levures nécessitent une activité de l'eau réduite et sont considérées comme véritablement xérophiles. Néanmoins, de nombreuses espèces de levures peuvent croître à des concentrations élevées en sucre et/ou en sel et sont classées comme xéro-tolérantes.
Organismes pH Interaction avec d'autres Dépendance à l'oxygène	<p>Les levures sont essentiellement des organismes aérobies. Les levures fermentaires, qui représentent environ la moitié des espèces décrites à ce jour, ne sont que des anaérobies facultatifs.</p> <p>En général, les levures préfèrent un milieu légèrement acide et ont un pH optimal entre 4,5 et 5,5, mais la plupart des espèces tolèrent une large gamme de valeurs de pH (généralement entre 3 et 10). Certaines espèces peuvent croître à un pH fortement acide ($\leq 1,5$). La tolérance au pH bas dépend du type d'acidifiant, les acides organiques ayant un effet inhibiteur plus fort que les acides inorganiques. Bien que les conditions acides soient mieux tolérées que les conditions alcalines, de nombreuses espèces de levures peuvent prospérer à un pH supérieur à 10.</p> <p>Dans leurs habitats naturels, les levures interagissent souvent avec différents macro- et micro-organismes. Ces interactions peuvent être facultatives ou obligatoires, mutuelles ou unidirectionnelles, et elles peuvent avoir un effet positif (+), négatif (-) ou neutre (0) sur les partenaires impliqués.</p>

I.3 Morphologie et structure des levures

La plus petite unité répliquative d'une cellule eucaryote est constituée du noyau, qui cependant dépend du cytoplasme pour les fonctionnalités de base nécessaires à la réplication. À son tour, l'entité fonctionnelle la plus petite qui compose un organisme est une cellule. De cette dualité - cellules et noyaux - résultent différents morphotypes de base (**Knop, 2011**). (figure 02)

Le premier morphotype est le syncytium, défini comme un cytoplasme contenant de nombreux noyaux. Ce morphotype n'est pas très fréquemment observé chez les levures. Les espèces de levures capables de former des syncytiums hyphales (de véritables hyphes septées), également appelés filaments, sont par exemple représentées par l'espèce strictement hyphale *Ashbya gossypii* du genre *Eremothecium*. Dans les hyphes de (*A. gossypii*), le cycle répliquatif des noyaux individuels est vraiment découplé de la croissance cellulaire et des processus dans le cytoplasme. En fait, chaque noyau est capable de suivre son propre cycle répliquatif, indépendamment du stade répliquatif des noyaux voisins (**Gladfelter, 2006**).

Le deuxième morphotype est celui décrit comme "normal", avec un agencement d'une cellule par noyau, où la division nucléaire et la division cellulaire sont étroitement couplées via la machinerie du cycle cellulaire. Ce couplage est évident lors des cycles de réplication purement végétative des cellules de levure (**Knop, 2011**).

Le troisième morphotype pertinent, qui est la division cellulaire par endobudding, un processus comparable à l'endodyogénie ou à l'endopoligénie chez de nombreux protistes tels que *Toxoplasma gondii*. Ici, la réplication cellulaire se produit par l'assemblage de cellules filles à l'intérieur des cellules mères à partir de noyaux qui ont été générés lors d'une à plusieurs divisions nucléaires précédentes. Ce type de division cellulaire implique une rupture de la topologie, chaque noyau organisant sa séparation du cytoplasme commun en assemblant une nouvelle membrane plasmique qui est discontinue par rapport à la membrane plasmique syncytiale (**Knop, 2011**).

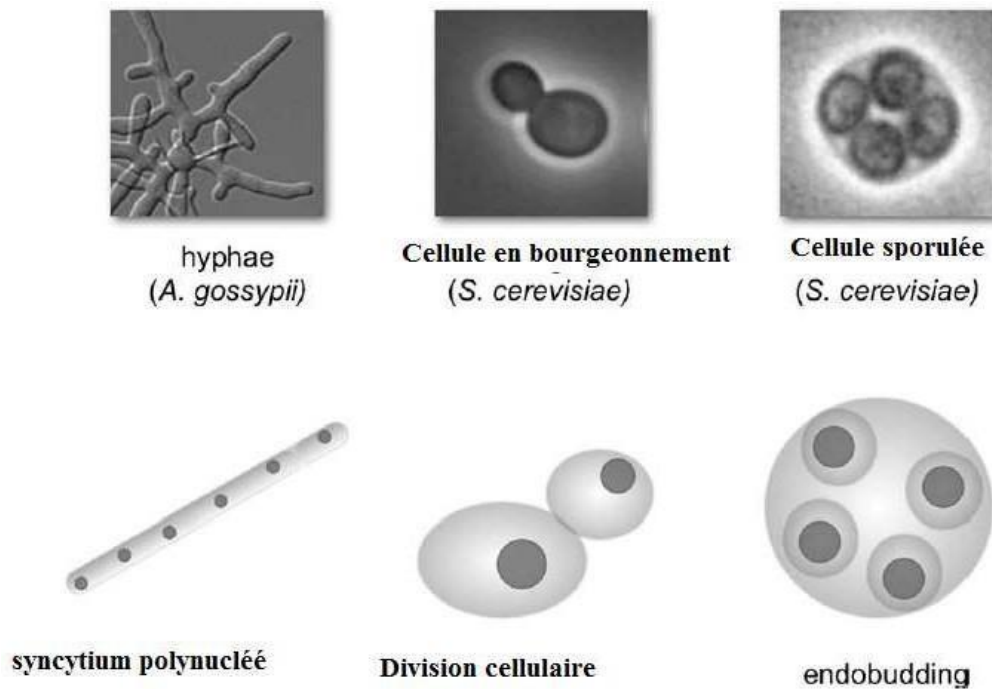


Figure 02: Les morphotypes cellulaires de base (Knop, 2011).

I.4 Classification des levures

Le système de classification présenté dans le Tableau I.2, repose principalement sur les travaux de KURIZ et FELL (Boekhout, 2003). Il est probable que ce système évoluera à l'avenir. Nous avons essayé d'intégrer à une même classification les taxons à reproduction asexuée (anamorphes, imparfaits ou *mitosporiques*) et les taxons à reproduction sexuée (téléomorphes, parfaits ou méiotiques). De nombreux genres de levures basidiomycètes anamorphes, comme *Cryptococcus*, *Sporobolomyces*, *Bensingtonia* et *Rhodotorula*, sont polyphylétiques. Certains genres d'ascomycètes, notamment le genre anamorphe *Candida* et le genre téléomorphe *Pichia*, présentent également une polyphylie.

Tableau 02: Aperçu de la classification des levures (Boekhout, 2003).

Division	Subdivision	Classe	Ordre	Famille
<i>Eumycota</i>	<i>1. Ascomyco</i>	<i>1. Archiascomycetes</i>	<i>1. Neoelectales</i>	<i>Neoelectaceae</i>
			<i>2. Pneumocystidales</i>	<i>Pneumocystidaceae</i>
			<i>3. Protomycetales</i>	<i>Mitosporic Protomycetales</i> <i>Protomycetaceae</i>
			<i>4. Schizosaccharomyces</i>	<i>Schizosaccharomycetacea</i>
			<i>5. Taphrinales</i>	<i>Taphrinaceae</i>
		<i>2. Euascomycetes</i>	/	/
		<i>3. Hemiascomycetes</i>	<i>Saccharomycetales</i>	<i>Ascoideaceae</i>
				<i>Cephaloascaceae</i>
				<i>Dipodascaceae</i>
				<i>Eremotheciaceae</i>
				<i>Lipomycetaceae</i>
				<i>Metschnikowiaceae</i>
				<i>Phaffomycetaceae</i>
				<i>Saccharomycetaceae</i>
				<i>Saccharomycodaceae</i>
				<i>Saccharomycopidaceae</i>
				<i>Candidaceae</i>
	<i>2. Basidiomycotina</i>	<i>1. Hymenomycetes</i>		<i>Cystofilobasidiaceae</i>
			<i>1. Cystofilobasidiales</i>	<i>Mitosporic members de Cystofilobasidiaceae</i>
			<i>2. Filobasidiales</i>	<i>Filobasidiaceae</i>
			<i>3. Tremellales</i>	<i>Sirobasidiaceae</i>
				<i>Tremellaceae</i>
		<i>2. Ustilaginomycetes</i>	<i>4. Ustilaginales</i>	<i>Mitotic members de Ustilaginaceae</i>

I.5 Reproduction des levures

I.5.1 Reproduction végétative

Les levures présentent différents modes de reproduction végétative (généralement appelés bourgeonnement ou division, mais un terme plus universel est la conidiogenèse). La reproduction végétative ou asexuée se produit chez les levures par bourgeonnement, par division, et par la production de conidies sur de courts pédoncules appelés stérigmates (**Boekhout, 2003**).

Les levures sont considérées comme des champignons dont la forme morphologique principale est unicellulaire, se divisant soit par bourgeonnement, soit par fission. Les cellules végétatives de nombreuses espèces de levures appartenant à la famille des *Saccharomycetaceae* ou à des genres proches (en particulier celles séquencées par le consortium Génolevures) présentent des formes ellipsoïdales ou sphériques similaires, avec un diamètre de quelques micromètres, et se reproduisent par bourgeonnement (**Souciet, 2009**).

I.5.2 Reproduction sexuée

I.5.2.1 Levures ascomycètes

Chez les levures ascomycètes homothalliques avec une phase végétative diploïde, une seule cellule végétative diploïde peut subir la méiose et devenir un asque non conjugué. La condition diploïde peut être restaurée par la conjugaison des ascospores à l'intérieur de l'ascus, ou par la fusion des noyaux filles (**Phaff, 2014**).

I.5.2.2 Levures basidiomycètes

De nombreuses espèces de levures basidiomycètes ont des cycles de vie dimorphes dans lesquels en griffe sont fréquemment présentes. Le système de reproduction (ou système d'incompatibilité des phases de levure Monokaryotiques alternent avec des phases hyphales dikaryotiques. Les connexions) des levures Basidiomycètes peut être bipolaire, tétrapolaire ou tétrapolaire modifié.

I.6 Caractéristiques physiologiques et biochimiques

La caractérisation physiologique reste importante pour l'identification des souches de levures inconnues. Deux méthodes sont couramment utilisées, à savoir la technique auxanographique et la croissance en milieu liquide. Récemment, plusieurs kits commerciaux ont été introduits utilisant une série limitée de composés. L'utilisation anaérobie des sucres est généralement testée en mesurant la quantité de CO₂ piégée dans les tubes Durham. On a soutenu que cette méthode n'est pas très précise pour détecter la fermentation chez les espèces de levures à fermentation lente car le CO₂ peut ne pas évoluer assez

rapidement pour être collecté sous forme de bulle de gaz. En raison de cela, de nombreuses espèces de levures longtemps considérées comme non fermentatives se sont révélées capables de produire de l'éthanol (Van Dijken *et al.*, 1986). Cependant, à des fins d'identification, l'utilisation de tubes Durham est recommandée en raison de sa préparation et de son évaluation aisée. Un test de fermentation initial utilisant uniquement du glucose est conseillé. Si aucune fermentation n'est détectée, les autres sucres n'ont pas besoin d'être testés. Les sucres testés à des fins d'identification incluent généralement le glucose, la galactose, le maltose, le saccharose, le lactose, la raffinose, le tréhalose et le xylose.

Les levures, dépourvues de chlorophylle, ne peuvent synthétiser les composés organiques nécessaires à leur croissance à partir de substrats minéraux, contrairement aux végétaux supérieurs, aux algues et à certaines bactéries. Elles sont donc saprophytes, parfois parasites. Leur croissance nécessite de l'oxygène, des sources organiques de carbone, de l'azote sous forme minérale ou organique, divers minéraux, ainsi qu'une température et un pH appropriés. Certaines ont également besoin d'une ou plusieurs vitamines, telles que la thiamine (vitamine B1), la biotine (vitamine B8), l'inositol (vitamine B7), et l'acide pantothénique (vitamine B5) (Karlson, 1970).

En outre, elles nécessitent d'autres facteurs de croissance. Toutes sont capables d'utiliser le D-glucose, le D-fructose et le D-mannose. Certaines levures produisent des lipides, comme le *Lipomyces starkeyi*, tandis que d'autres présentent une activité lipolytique. Elles utilisent une variété de substrats carbonés, soit exclusivement par voie oxydative (comme *Cryptococcus* et *Rhodotorula*), soit principalement après une phase aérobie initiale de croissance, par métabolisme fermentaire (anaérobie), conduisant à la production d'éthanol et de CO₂.

I.7 Effet antimicrobien des levures

I.7.1 Effet antifongique

Des souches naturelles de levure de vin des genres *Saccharomyces* et *Zygosaccharomyces* se révèlent être des antagonistes de 10 espèces de champignons pathogènes du sol dans l'un des premiers rapports (Suzzi *et al.*, 1995).

Par conséquent, des isolats de *Pic. kudriavzevii*, *Met. pulcherrima*, *L. thermotolerans*, *Pic. terricola*, et *Can. incommunis* se sont révélés antagonistes d'*Aspergillus carbonarius* et d'*A. niger* (Bleve *et al.*, 2006). Des recherches sur le biocontrôle de *Botrytis cinerea* ont permis d'identifier des souches antagonistes d'*Aur. pullulans*, *Met. pulcherrima* et *Mey. guilliermondii* (Raspor *et al.*, 2010) ; *Schizosaccharomyces pombe* et *Sac. cerevisiae* (Nally *et al.*, 2012) ; et *Sta. bacillaris* (Lemos Junior *et al.*, 2016).

I.7.2 Effet antibactérien

Les secteurs alimentaire et pharmaceutique utilisent fréquemment *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (*S. boulardii*), un membre de l'espèce *S. cerevisiae* (Khatri *et al.* 2017; Nandy et

Srivastava 2018). *S. boulardii* est unique en ce sens qu'elle peut résister aux conditions gastro-intestinales sévères que l'on trouve dans l'estomac humain, affichant un développement optimal à 37 °C et une tolérance à un faible pH (**Hossain et al. 2020**). En outre, elle génère des acides antibactériens, dont l'acide acétique (**Sen et Mansell 2020**).

L'usine cellulaire microbienne *S. boulardii* s'est révélée prometteuse dans la production de composés bénéfiques pour la santé, tels que les néoagaro-oligosaccharides (**Jin et al. 2021**) et le peptide antimicrobien leucocine C (**Li et al. 2021**)

Chapitre II

Miel et Dattes

Chapitre II : Miel et dattes

Partie I : Le miel

II.1. Définition de miel

Selon le dictionnaire **Petit Robert (2008)**, le miel est décrit comme une "substance sirupeuse et sucrée, d'un blanc ambré, que les abeilles fabriquent dans leur jabot avec le nectar des fleurs ou d'autres éléments végétaux, et qu'elles évacuent dans les alvéoles des rayons pour nourrir leur communauté".

De plus, dans le **codex Alimentarius (2001)**, le miel est défini comme la substance sucrée naturelle produite par l'abeille *Apis mellifera* (Apidae) à partir du nectar des plantes ou des excréments d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes des plantes, que les abeillesbutinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles- mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de laruche.

Selon **Blanc (2010)**, le miel est l'aliment que les abeilles mellifiques produisent à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de parties vivantes de plantes. Effectivement, elles produisent, modifient, mélangent avec des matériaux propres, stockent et laissent s'épanouir dans les rayons de la ruche. Il se peut que cette denrée soit fluide, épaisse ou cristallisée.

II.2. Classification de miel

Il existe plusieurs espèces de miel, qu'on peut classer aisément selon les différents critères: l'origine florale, la source de récolte et l'origine géographique. L'origine florale :

Il y a deux catégories de miels floraux :

II.2.1. Les miels mono-floraux

La production de miels mono-floraux est réalisée à partir du nectar et/ou du miellat d'une seule espèce végétale, ce qui implique bien entendu de placer les ruches à proximité de la plante recherchée. Bien que beaucoup de plantes soient mellifères, un nombre limité d'entre elles permettent une production mono-florale caractéristique.

À eux seuls, les miels de colza et de tournesol représentent près de la moitié de la production totale française. Les miels d'acacia, de lavande, de romarin, de callune, de tilleul, de châtaignier, etc., sont des grands crus. Ils sont clairement identifiés et fabriqués en quantité considérable. Les miels de framboisier, de serpolet, d'arbousier ou de rhododendron sont des crus rares. Ils sont peu

nombreux car ils sont fabriqués sur des territoires .restreints

Les miels mono-floraux sont également mentionnés : cerisier, aubépine, bleuet, bourdaine, bruyère, épilobe, lierre, luzerne, houx, moutarde des champs, pissenlit, chardon, ronce, sainfoin, Sarrazin, saule, thym, trèfle, chêne, eucalyptus, sapin, clémentinie (**Bourg, 2006**).

II.2.2. Les miels poly-floraux

On fabrique ces miels à partir du nectar et/ou du miellat de diverses espèces végétales. Ceux-ci constituent la plupart de la production française. Afin de mettre en avant leur particularité et d'aider le consommateur à reconnaître leur position dominante, les apiculteurs mentionnent leur origine géographique. Elle correspond soit à la zone de production (région, département, massif...), soit à un type de paysage qui correspond à une flore spécifique (garrigue, maquis, forêt...). L'épilobe, la ronce, les bruyères, le lierre et les miellats de conifèresvariés, de chêne, de hêtre et de tilleul sont les sources du miel de forêt. Les ingrédients du mielde garrigue sont le romarin, le thym, la sarriette, le trèfle blanc, l'asphodèle, la ronce et la lavande. La composition du miel de haute montagne est composée de rhododendron, de trèfle blanc, d'épilobe, de ronce et de framboisier. Le colza, le pommier, le cerisier, le trèfle, le pissenlit et la cassis sont les plantes dominantes du miel de printemps (**Bourg, 2006**).

II.2.2.1 Composition nutritionnelle du miel

Le miel est un produit biologique d'une grande complexité d'où sa composition dépend de très nombreux facteurs : espèces butinées, nature du sol, race d'abeilles, état physiologique de la colonie (**Bogdanov, 2011**). La composition moyenne est présentée dans le tableau 1.

La composition du miel est très complexe et ses principaux constituants chimiques sont proches de ceux du nectar et du miellat : l'eau, les glucides, les acides organiques (libres ou combinés sous formes de lactones), les protides et les matières minérales (**Bogdanov et al., 2004a**).

Tableau 03: Composition moyenne du miel (Louveau, 1980 ; Gonnet, 1991 ; Huchet et al., 1996 ; Codex alimentaire, 2001, Donadieu, 2003 ; Bogdanov et al., 2004a ; Ravazzi, 2014)

Constituants	Teneur
Eau	Max 20 %. Norme européenne max 21% sauf exception (ancienne norme européenneet codex alimentaire) Miel de bruyère (Calluna) et miel destiné à l'industrie en général pas plus de 23% L'optimum est de 17 -18 %.
Glucides	Glucose (dextrose) :31 %.Fructose (lévulose) :38 %.Maltose : 07 %. Saccharose : 1,5 - 02 %. Faux acacia, luzerne, banksie de Menzies, hedysaron, eucalyptus,agrumes spp. Pas plus de 10 g/100 g Lavande, bourrache pas plus de 15 g/100 g Polysaccharides : 1,5 - 02 %.
Protides	Représentent moins de 1% ; ce sont des colloïdes, des protéines et desacides aminés tel que l'alanine et la proline.
Acides organiques.	Représentent 0,3 % L'acide gluconique (principal acide organique dans le miel).
Eléments minéraux	0,2 jusqu'à 0.6 % pour les miels de nectar. 01 % pour les miels de miellat.
Enzymes	Les principales sont les amylases α et β , les gluco-invertases et les gluco-oxydases.
Vitamines	Le miel n'en contient que très peu. On peut trouver des traces de vitamines de groupes B, C et accessoirement les vitamines A, D et K.
HMF	≤ 40 mg/kg (norme européenne) ≤ 80 mg/kg (pays chauds).
Facteurs antibiotiques naturels	Inhibines, qui sont en faits de puissants bactériostatiques.
Autres éléments	Ce sont des grains de pollen, des levures et des spores.

II.2.2.1.1 Eau

D'après **Donadieu (1978)**, le pourcentage d'eau varie en moyenne de 16 à 20%. Cette teneur est une des caractéristiques importantes du miel car elle conditionne pratiquement sa qualité, l'optimum se situe entre 17 et 18%, sauf de très rares exceptions : miel de bruyère et de trèfle où ce pourcentage ne doit pas dépasser 23%. La norme européenne admet un maximum de 21% (**Bogdanov et al., 2000**). Cette norme a été remplacée par un maximum de 20%. Récemment certains scientifiques et experts ont proposé de revenir à la norme de 21%.

II.2.2.1.2 Glucides

Les glucides représentent de 95 à plus de 99% de la matière sèche des miels (**Philippe, 2007 ; Riddle, 2016**) ; l'eau et les sucres ensemble forment la quasi-totalité du miel.

II.2.2.1.3 Acides Organiques

Selon **Bogdanov (2011)**, l'analyse des acides organiques contenus dans les miels a montré qu'ils sont nombreux, mais c'est l'acide gluconique, provenant du glucose, qui domine. On trouve aussi d'autres acides (acide succinique, malique, oxalique.....etc. (**Jean-Prost et Le Conte, 2005**).

II.2.2.1.4 Acides Aminés et Protéines

Selon **Louveaux (1968a)**, les substances azotées ne représentent qu'une infime partie du miel pur. Il s'agit d'acides aminés libres et de protéines qui peuvent être d'origines diverses (nectar, pollen, abeilles).

La teneur en proline donne des informations sur la maturité du miel et peut servir à détecter des falsifications. On considère qu'un miel est arrivé à maturité lorsque sa teneur en proline est supérieure à 183 mg/kg, des valeurs plus basses indiquent un manque de maturité ou une falsification (**Bogdanov et al., 2004a**).

II.2.2.1.5 Sels minéraux et Oligo-éléments

D'après **Donadieu (2003)**, les éléments minéraux représentent 0,2% pour les miels de nectar, et jusqu'à 1% pour les miels de miellat, avec plus d'une trentaine d'éléments déjà inventoriés dont le principal élément est le potassium.

Les miels foncés sont globalement plus riches quantitativement en matières minérales que les miels clairs (**Donadieu, 2003**).

II.2.2.1.6 Lipides

Le miel contient de faibles quantités de lipides, principalement l'acide palmitique et oléique et très peu d'acides laurique, myristoleique, stéarique et linoléique (**Philippe, 2007**).

II.2.2.1.7 Enzymes

Selon **Jean-Prost et Le Conte (2005)**, le miel contient plusieurs enzymes. Les principales enzymes du miel sont : l'invertase (α -glucosidase), l'amylase (α -amylase ; diastase), glucose oxydase, catalase et la phosphatase. L'invertase et l'amylase sont importantes pour l'appréciation du miel (**Donadieu, 1978 ; Bogdanov et al., 2004a**).

II.2.2.1.8 Vitamines

Selon **Donadieu (2003)**, le miel contient essentiellement les vitamines B1, B2, B3 ou vitamine PP, B5, B6, C, et accessoirement les vitamines A, B8 ou vitamine H, B9, D et K .

II.2.2.2 Composition de miel

Le miel est extrêmement complexe et dépend des conditions météorologiques pendant la miellée, de la nature du sol, de la source florale, de la ruche, de l'abeille elle-même, de la présence ou non d'autres insectes, ainsi que des techniques de traitement utilisées par l'apiculteur (**Hamitouche et Landri, 2020 ; Nedjar et al., 2020 ; Teyssier, 2019**).

II.2.2.3.1 Composés phénoliques

Lorsque les abeilles mellifères fourrissent du nectar et du pollen, elles métamorphosent les composés phytochimiques des nectars floraux des plantes hôtes en miel. La variabilité des profils phytochimiques dans la composition du miel est responsable de la variété des métabolites secondaires présents dans les plantes (**Nguyen et al., 2019**). Les polyphénols constituent le groupe de métabolites secondaires le plus abondant et le plus commun dans les miels. On a découvert deux grandes catégories de composés phénoliques dans le miel : les flavonoïdes et les acides phénoliques (**Afrin et al., 2020**).

Les flavonoïdes jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement du miel. La quantité de flavonoïdes présente dans le miel est d'environ 20 mg/kg et varie en fonction de l'origine botanique du produit. D'après diverses recherches, les flavonols (quercétine, myricétine, kaempférol) ; flavones (chrysine, apigénine, lutéoline, diosmétine); flavanones (hespérétine, pinocembrine, naringénine) et flavanols (catéchine, épicatechine, épigallocatechine-menton, épigallocatechine gallate) présents dans le miel (Figure 03) (**Afrin et al., 2020**). Ces produits sont généralement liés à des sucres (glycosides), principalement du glucose. En ce qui concerne le miel et ses flavonoïdes, il est important de prendre en considération la présence de glucosidases provenant des glandes salivaires des abeilles, ce qui pourrait constituer une autre méthode d'hydrolyse de ces composés. De plus, cela explique pourquoi de nombreux flavonoïdes sont présents dans le miel sous forme d'aglycones (**CiAnciosi et al., 2018**).

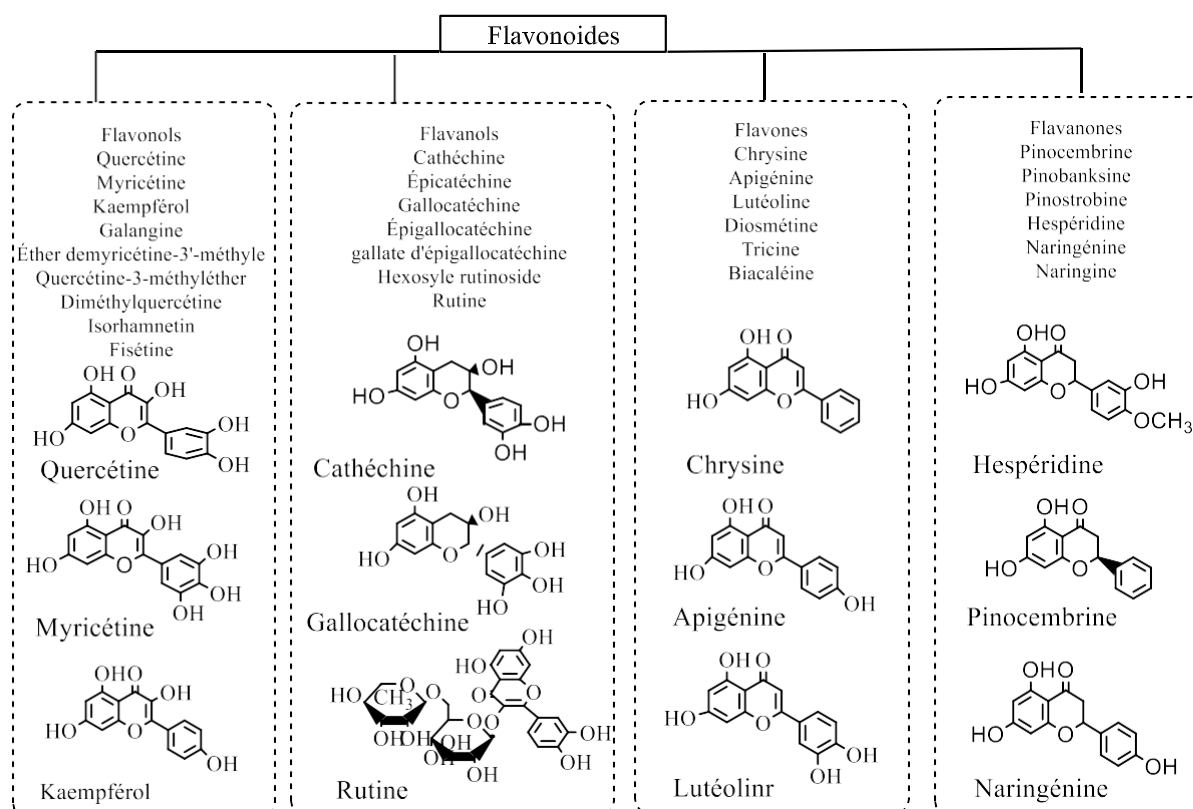


Figure 03: Principales flavonoïdes du miel (Afrin et al., 2020).

En fonction de leur composition chimique, on peut classer les acides phénoliques du miel en deux sous-groupes : les acides hydroxy benzoïques et les acides hydroxy cinnamiques. La structure nucléaire de tous les acides hydroxybenzoïques est C1-C6, dérivée de l'acide benzoïque, mais ils se distinguent par l'hydroxylation et la méthylation du cycle aromatique. L'acide benzoïque, l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide salicylique, l'acide gallique et l'acide ellagique sont les acides hydroxybenzoïques les plus fréquents dans le miel (Figure 04). Les cycles d'origine des acides hydroxycinnamiques varient (acides phénylacétiques et acétophénones). L'acide caféique, l'acide p-coumarique, l'acide férulique et les acides sinapiques sont les acides hydroxycinnamiques les plus importants observés dans le miel (Figure 04). Selon les origines botaniques, il est possible que le miel contienne d'autres acides phénoliques tels que les acides asphoxycinnamiques et l'acide chlorogénique (Afrin et al., 2020).

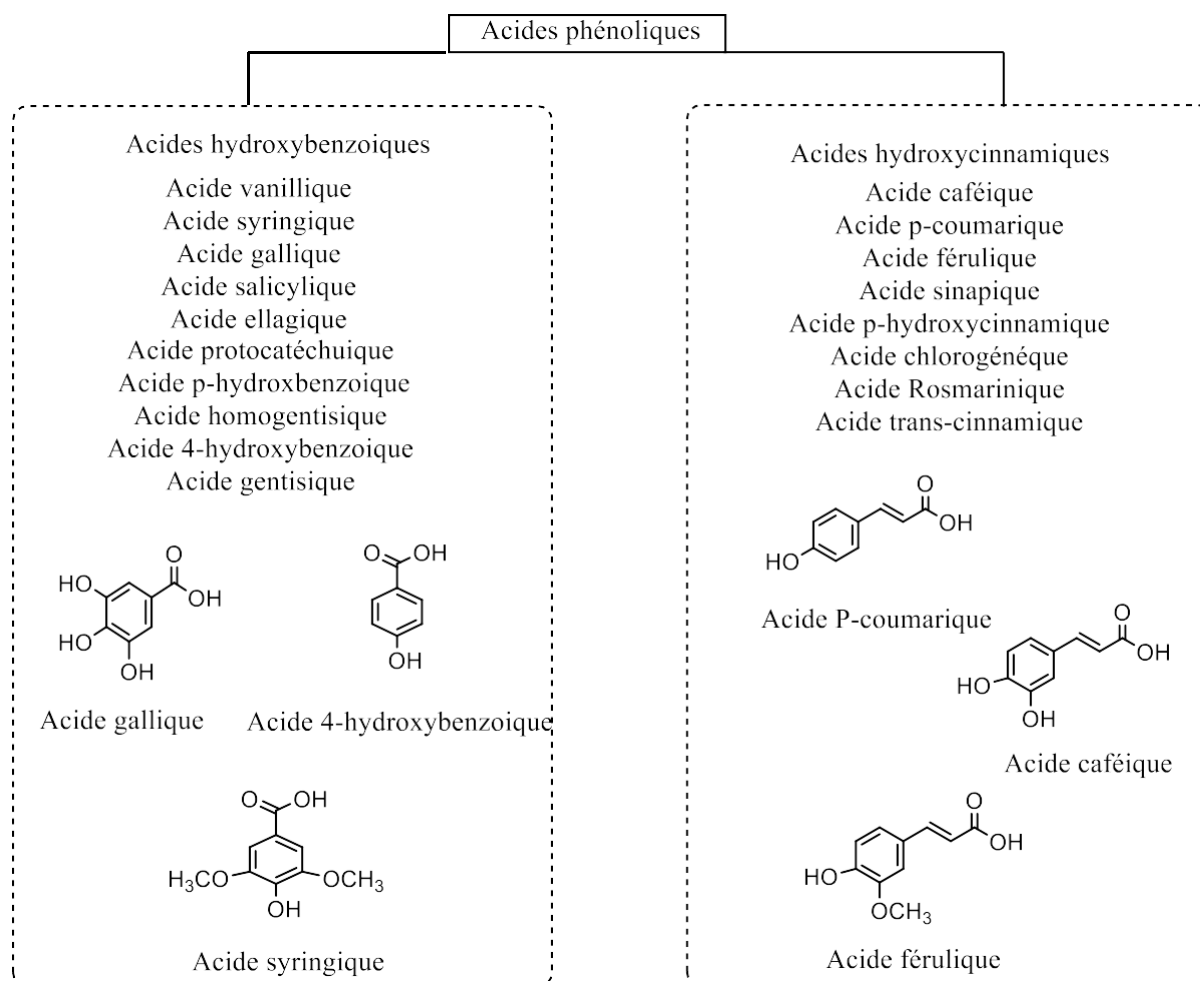


Figure 04: Principales acides phénoliques du miel (Afrin *et al.*, 2020).

II.3. Propriétés du miel

II.3.1. Propriétés organoleptiques

D'après leur origine, les divers miels ont des caractéristiques visuelles, olfactives, et tactiles extrêmement variés. La fiche descriptive d'un produit est constituée de toutes les perceptions sensorielles ressenties par le consommateur. Il a donc la possibilité de reconnaître ses qualités essentielles ainsi que ses faiblesses (Clément *et al.*, 2000).

II.3.1.1. La couleur

La couleur des miels est une caractéristique physique essentielle car elle est liée à leur origine florale et à leur composition. Elle varie d'une couleur presque incolore à un brun foncé. La coloration du miel est intensifiée par le chauffage, le vieillissement et la lumière (**Laudine, 2010**).

II.3.1.2. L'odeur

L'odeur varie considérablement selon les miels, mais elle s'évapore très rapidement. Ces plantes peuvent être végétales, florales ou fruitées, puissantes ou non, fines, lourdes ou générales. On peut considérer un défaut une odeur de fumée ou de fermentation (**Clément *et al.*, 2000**).

II.3.1.3. Le goût

Les arômes, la saveur (acide, sucrée, salée, amère) et la flaveur par voie rétro-nasale sont responsables du goût. Ils peuvent être végétaux, floraux, empyreumatiques, fins, forts ou persistants, étrangers. Selon (**Clément *et al.*, 2000**), l'arrière-goût peut être amer ou acide et laisser une sensation de tanin, de rance, de fumée... etc.

II.3.1.4. La teneur en proline des miels

Les miels normaux doivent avoir une teneur en proline supérieure à 200 mg/kg. Les valeurs inférieures à 180 mg/kg signifient que le miel est probablement falsifié par l'ajout de sucre (**Bogdanov, 2009**).

II.4. Propriétés physico-chimiques

Les principales propriétés physico chimiques du miel sont présentées dans le tableau

Tableau 04: Principales propriétés du miel (Caillas, 1984 ; Chauvin, 1987 ; Jean-Prost et Le Conte, 2005).

Propriétés		Caractéristiques
Propriétés mécanique	Densité	La densité d'un miel à 20°C est en moyenne de 1.4225
	Viscosité	De 30 à 35°C la viscosité est minimale. La viscosité est très élevée à basse température.
	Hygroscopicité	Un miel contenant 18 % d'eau, peut atteindre une hygrométrie de 55%.
Propriétés calorifiques	Chaleur spécifique	A 20°C, la chaleur spécifique d'un miel à 17% d'eau est de 0.54 Cal/°C. Pour un miel cristallisé à 20°C elle est de 0.55 à 0.57 Cal/°C.
	Conductibilité thermique	Pour un miel à 20% d'eau finement cristallisé elle est de $1.29 \cdot 10^{-4}$ cal/cm/s/°c.
	Conductibilité Electrique	A 20°C, pour une solution à 20% de matière sèche la conductibilité va de Moins de 1 et plus de $10 \cdot 10^{-4}$ S/cm
	Abaissement de point decongélation	Dépend de la proportion en sucres, il serait de 1.42°C à 1.53°C en solution aqueuse à 15% et de 2.75 à 3.15°C en solution aqueuse à 25%.
Propriétés optiques	Indice de réfraction	L'indice de réfraction est plus élevé que sa teneur en eau est plus basse. Il est de 1.47 à 1.50 à température de 20°C.
	Pouvoir rotatoire	La plupart des miels sont lévogyres mais il existe quelque'un dextrogyre.
	Mutarotation	Elle peut atteindre près de 3° elle serait liée au passage du α -glucose peu Actif à l' β -glucose très actif sur la lumière polarisée.
	Coloration	Varie selon l'espèce butinée. Le miel est coloré en jaune très clair au brun presque noir en passant par toutes les gammes de jaune, de l'orange, de roux ou de brun parfois verdâtre. A l'échelle de P.FUND , la couleur varie de 1 à 14.
	Turbidité	Le miel naturel contient toujours en suspension des particules solides où Des matières colloïdales qui leur donnent une certaine turbidité.
	Fluorescence	Sous l'action de l'ultraviolet, beaucoup des miels présentent une fluorescence dont les couleurs sont aussi très variables selon la composition du miel examiné.

II.4.1. pH

Le pH du miel a été utilisé pour identifier son origine géographique et correspondait à l'une des formes d'adultération du miel (**Gomes *et al.*, 2010**). Le miel a un pH variant de 3,4 à 6,4.

II.4.2. Conductivité électrique

La capacité du miel à déplacer le flux électrique est connu sous le nom de conductivité électrique.

La conductivité électrique du miel est définie comme la capacité du miel à déplacer le flux électrique en raison des minéraux, des sels, des organiques et d'autres composants présents dans le miel (**Adgaba *et al.*, 2020**).

Ce critère renforce les diverses limites employées pour garantir l'origine botanique du miel (**Yücel et Sultanoglu, 2013**). Selon les recherches de Chefrour et ses collègues (**2009**).

La conductivité électrique est associée à la quantité de cendres et à l'alcalinité du miel et l'acidité du miel, qui est couramment employée pour distinguer les miels de ceux provenant d'autres nations.

Le miel de miellat et le miel de fleurs sont également utilisés pour classer les miels unis floraux

II.5.2.3. HMF (hydroxymethylfurfural)

Hydroxymethylfurfural (HMF) est largement reconnu comme une limite de dégradation du miel. Le miel conservé pendant une longue période présente une forte teneur en HMF, qui est formée par la dégradation de monosaccharides, en particulier du fructose. La variété des oiseaux de miel, la saison, le pH du miel, la condition de stockage et l'échauffement sont les facteurs qui influencent la teneur en HMF du miel (**Gebbru Equar *et al.*, 2015 ; Mar Cavia *et al.*, 2008 ; Turhan *et al.*, 2008**). Les études de **Berhe *et al.*, (2018)**. Indiquent une valeur plus élevée (14.99mg/kg).

Engidaw *et al.*, (2020) ont examiné l'impact de la saison sur le taux d'HMF du miel et ont rapporté que la saison est également un facteur qui influence le taux d'HMF du miel.

II.5. Propriétés fonctionnelles du miel

II.5.1. Propriétés antimicrobiennes

La microflore du miel est principalement composée de bactéries sporulées et de levures. Le miel possède des propriétés antimicrobiennes qui empêchent la prolifération de nombreux micro-organismes. On ne connaît pas la cause précise de l'activité antimicrobienne du miel. On ignore encore l'activité antimicrobienne du miel. Toutefois, plusieurs chercheurs ont signalé que plusieurs

substances chimiques entravent la croissance microbienne.

Selon (**Khan et al., 2018**), la croissance microbienne est entravée par divers facteurs tels concentration élevée de sucre, la production de H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène), un pH bas et la présence de composés phénoliques, protéiques ou d'autres composés non identifiés (**khan et al., 2018**).

L'activité inhibitrice du miel contre certaines espèces de champignons est également présente. Selon (**Bogdanov, 2017**), il a été mentionné que certaines bactéries présentes dans le miel génèrent des composés peptidiques antifongiques de type antibiotique. Selon certaines recherches, il a été démontré que l'extrait éthanolique de miel a une activité antifongique (**Khan et al., 2018**). Les microorganismes rencontrés dans le miel

II.5.1.1 Les microorganismes rencontrés dans le miel

II.6.1.1.1 Moisissures

Les moisissures trouvées dans le miel sont : *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Penicillium*, *Ascosphaera* (**Tysset et al., 1970a**). *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* et les *Rhizopus* (**Ward et Trueman, 2001**).

Piana et al. (1991), affirment que En outre, **Morse et Hooper (1985)**, rapportent que les pattes de l'abeille peuvent transporter des spores de champignons et que le pollen stocké par les abeilles peut être attaqué par une moisissure appelée *Bettisia alvei*.

les moisissures puissent survivre mais ne peuvent pas se développer dans le miel.

II.6.1.1.2 Levures

Selon **Tysset et Rousseau (1981)**, les espèces de *Saccharomyces* représentent les levures les plus dominantes trouvées dans le miel. Ainsi la fermentation du miel est due à des levures osmophiles que l'on peut trouver dans tous les miels.

Crane (1979), ajoute que les levures rencontrées dans le miel appartiennent essentiellement aux genres : *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Torula*, *Zygosaccharomyces*.

D'après **Louveaux (1968)**, la richesse en levures constitue un facteur important pour la fermentation du miel. Ce facteur est très variable d'un échantillon à l'autre. Le nombre de germes peut passer de 1 à 1 million par gramme. Selon le même auteur quatre types de levures osmophiles susceptibles de provoquer une fermentation d'un miel ont été isolés (*Zygosaccharomyces barkeri*, *Z. mellis*, *Z. nussbaumeri*, *Z. richteri*), toutes appartiennent au genre *Zygosaccharomyces*.

II.6.1.1.3 Bactéries et spores bactériennes

Les bactéries ramenées dans le miel par les abeilles sont probablement des bacilles à Gram+ (Tysset et Rousseau ., 1981). La flore mésophile totale, introduite par les abeilles, est sans conséquence pour le consommateur et n'a pas d'action néfaste sur le miel (Fléché et al., 1997). La flore aérobie mésophile totale comprend des bactéries, des levures et des moisissures se développant en aérobiose à 30 °C (Jouve, 1996 ; Guiraud et Rosec, 2004).

Les spores des bactéries des genres *Bacillus* et *Clostridium* peuvent être trouvées dans le miel (Snowdon et Cliver, 1996)

II.5.2. Propriétés anti oxydantes du miel

Selon Ereju *et al.*, (2012), une étude a prouvé les propriétés du miel chez les rats en tant qu'antioxydant et agent antidiabétique. Les antioxydants ont été produits par les acides phénoliques, les flavonoïdes et certaines enzymes vitales présentes dans le miel

. Selon plusieurs études, les consommateurs accordent désormais une importance particulière à la présence d'antioxydants dans les aliments (Khalil *et al.*, 2010 ; Roy et Ganguly, 2014 ; Moussa *et al.*, 2012).

On a signalé que le miel a la capacité de prévenir la dégradation des aliments causée par les réactions d'oxydation, comme le brunissement enzymatique des fruits et des légumes et l'oxydation des lipides dans la viande animale. Les antioxydants ont une grande efficacité dans la lutte contre diverses affections telles que les inflammations, les troubles neurologiques, les cancers, les plaies, les maladies infectieuses, les maladies cardiovasculaires et le vieillissement. Dans le but de préserver la santé, les antioxydants neutralisent les radicaux libres (Khalil *et al.*, 2010 ; Roy et Ganguly, 2014).

II.6. Effets anti-inflammatoires et thérapeutiques

Le miel joue un rôle précieux dans la guérison rapide des infections. Il soulage rapidement les douleurs, l'inflammation et l'enflure. Selon Sampath Kumar et ses collègues (2010), le miel peut être bénéfique pour traiter les ulcères tels que les ulcères de jambe, les pieds diabétiques et les ulcères de pression. D'après Abeshu et Gelata, (2016), le miel représente un élément naturel qui a une efficacité remarquable dans le traitement de la Cicatrisation des blessures , et la guérison des blessures. Étant donné qu'il ne présente aucun effet secondaire ni allergie, il représente le médicament le plus sécurisé pour une cicatrisation plus rapide. Le miel forme une couche épaisse et visqueuse autour de la blessure, ce qui empêche les bactéries de se propager. (Scepankova *et al.*, 2017).

PARTIE II: Les Dattes

II.1. Description des dattes

Le palmier dattier produit un fruit qui est une baie allongée, oblongue ou arrondie. Sa structure est constituée d'un noyau, dur, entouré de chair.

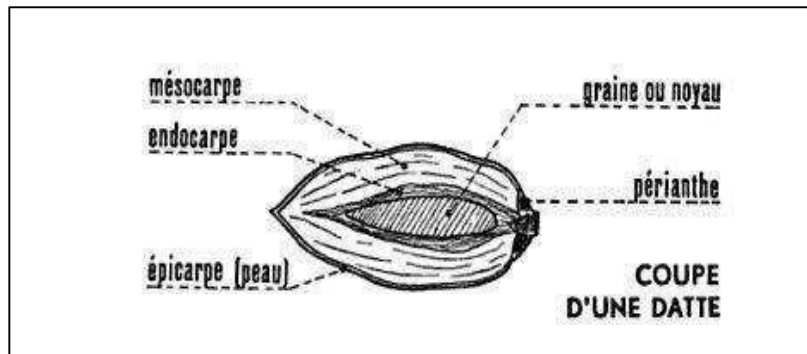


Figure 05: fruit du dattier (Guettouchi, 2017)

La chair ou pulpe, qui est la partie comestible, est composée de :

- Un épicarpe ou peau, ou enveloppe cellulosique fine, appelée peau ;
- Un mésocarpe, généralement charnu, de consistance variable selon la quantité de sucre et decouleur claire ;
- Un endocarpe, plus clair et fibreux, parfois réduit à une membrane par cheminée entourant lenoyau (Noui, 2007).

II.2. Variétés des dattes en Algérie

Le palmier dattier est le pilier de l'agriculture et la principale source de revenus de la population au Sahara algérien, avec une production annuelle moyenne de 60 kg/arbre, voire 100 kg/arbre dans certains cas. Selon (**Benchelah et Maka, 2006**), cet arbre précieux des oasis continue de produire pendant une période de cinquante à quatre-vingt ans, et parfois cette période peut aller jusqu'à cent ans.

L'Algérie possède une grande variété de dattes, avec plus de 940 cultivars (**Hannachi et al., 1998**). Chaque région possède sa propre datte préférée, plus ou moins oblongue, plus ou moins colorée, allant du jaune translucide au rouge sombre, et chaque variété a sa propre appellation (**Benchelah et Maka, 2008**). Les principales espèces cultivées comprennent :

Deglet-Nour: est une variété commercialement très prisée en raison de son apparence, de son onctuosité et de sa saveur. Au moment de la maturité, le fruit est d'un brun ambré avec un épicarpe lisse, légèrement plissé et brillant, et le mésocarpe est fin, légèrement fibreux. La Deglet-Nour est

presque exclusivement cultivée dans certaines régions d'Algérie (**Benchelah et Maka, 2008**).

Les variétés communes : sont moins importantes sur le plan économique que la variété Deglet-Nour. Ghars, Degla Beidha et Mech-Degla sont les variétés les plus courantes (**Amellal-Chibane et al., 2014**).

II.2.1 Description botanique des dattes

La datte, qui est le fruit du palmier dattier, se présente sous la forme d'une baie généralement allongée, oblongue ou arrondie, avec des dimensions très variables, allant de 2 à 8cm de longueur et d'un poids variant de 2 à 8 selon les variétés (**Amadou, 2016**). Elle contient un seul grain appelé noyau, la partie comestible de la datte appelée chair ou pulpe (**Amira et al., 2011**), en composant un:

- La peau est une fine enveloppe cellulosique appelée péricarpe.
- Le mésocarpe est habituellement charnu, de consistance variable en fonction de sa concentration en sucre et d'une couleur claire.

Selon **Atriche et Bourekoua (2019)**, l'endocarpe présente une couleur plus pâle et une texture fibreuse, qui peut parfois se réduire à une membrane parcheminée entourant le noyau.

II.3. Classification des dattes

Les dattes sont classées en trois catégories en fonction de leur texture à maturité et de leur consistance (**Berrabeh et Bennour, 2018**) :

Les dattes molles sont composées de sucres (fructose, glucose) tels que Ghars, Bentqbal, etc., avec un taux d'humidité supérieur ou égal à 30%.

Les dattes demi-molles ont une humidité comprise entre 20 et 30%, ce qui les place dans une position intermédiaire. Les dattes Deglet Nour sont les dattes à base de saccharose par excellence (**Difli et Fattouche, 2019**).

Les dattes sèches sont des dattes riches en saccharose, avec moins de 20% d'humidité, comme Mech Degla, Degla Beida, etc (**Touati, 2019**).

II.4. Stades de maturité

Il est crucial de comprendre les caractéristiques biochimiques et physiologiques des différentes étapes de maturation du fruit dattier, ainsi que les qualités sensorielles (sucrosité, couleur et texture...) et nutritionnelles (sucres et micronutriments...) (**Baliga et al., 2011**). Une terminologie irakienne (**Al-shahib et Marshall, 2003 ; Baliga et al., 2011 ; Booij et al., 1992 ; Saafi et al., 2009**) définit les différents stades de maturité des dattes : Hababouk, Khimri, Khalal, Routab et Tamar. Pendant le développement et la croissance du fruit dattier, diverses

modifications externes et internes se produisent. On les remarque grâce à des variations de couleur et de compositions biochimiques.

La variété Deglet-nour présente une diminution de la teneur en eau d'environ 80% au stade Khalal, de 35% au stade Routab et de 20% au stade Tamar. Selon Ait-Oubahou et Yahia(1999), les niveaux de sucres totaux et de saccharose augmentent respectivement de 13 et 8 %bs au stade Kimri à 60 et 40 % au stade Khalal, et jusqu'à 77 % et 53 % au stade Routab.

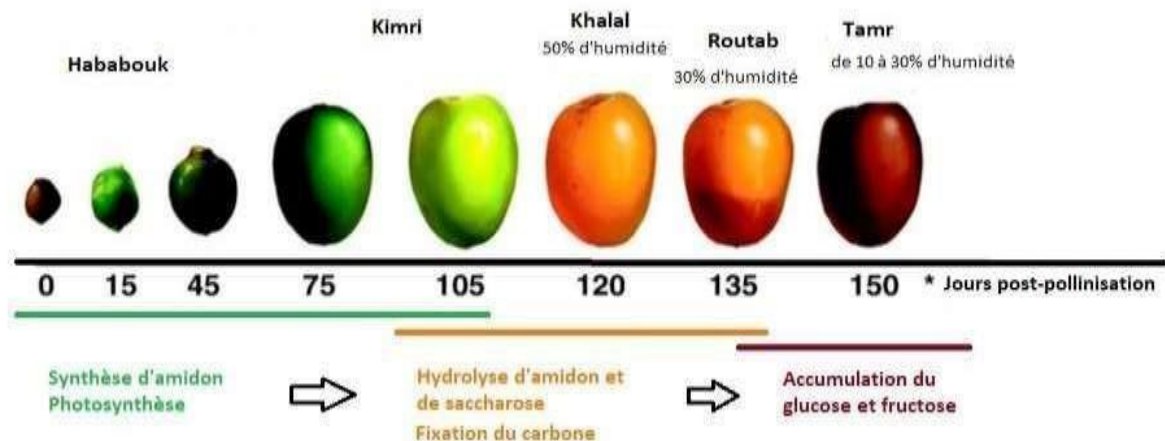


Figure 06: Stades de développement et maturation des dattes (Al-Mssallem et al.,2013).

II.5. Composition biochimique de la datte

II.5.1. Composition biochimique de la partie comestible "pulpe"

II.5.1.1.Eau

Les différentes variétés, le stade de maturation et le climat influencent la teneur en eau. Selon (AMELLAL, 2008), elle représente entre 8 et 30% du poids de la chair fraîche, avec une moyenne d'environ 19%.

II.5.1.2. Glucides

Les sucres jouent un rôle central dans la composition de la datte. L'étude des sucres de la datte a principalement mis en évidence la présence de trois catégories de sucres : le saccharose, le glucose et le fructose. Cela ne signifie pas que d'autres sucres sont présents en faible quantité, comme le galactose, la xylose et le sorbitol (Boukhiar, 2009).

La quantité totale de sucres varie considérablement en fonction de la variété et du climat. Selon Amellal (2008), elle représente entre 60 et 80% du poids de la pulpe fraîche.

II.5.1.3. Protéines

Les dattes se distinguent par leur faible taux de protéines. En général, elle ne représente que

moins de 3% du poids sec (**Boukhiar, 2009**). Bien que la quantité de protéines des dattes soit faible, elles sont équilibrées sur le plan qualitatif (**Amellal, 2008**).

II.5.1.4. Lipides

La datte contient une quantité limitée de lipides. Ils représentent de 0,43 à 1,9 % du poids frais. Selon **Amellal (2008)**, cette quantité varie en fonction de la variété et du stade de maturation.

II.5.1.5. Valorisation nutritionnelle

La datte est une source énergétique riche en sucre, avec une quantité de 306 K calories pour 100 g de pulpe de Déglet Nour (**Randouni et Munier (1973)**).

Cependant, selon **Patron et Munier (1973)**, 100g de pulpe de variétés communes fournissent 260 K calories.

II.6. Caractéristiques physico-chimiques des dattes

II.6.1. Teneur en eau

Selon la variété, le stade de maturation et le climat, la quantité d'eau varie. Selon **Noui (2007)**, elle peut représenter entre 8 et 30 % du poids de la chair fraîche, avec une moyenne d'environ 19%.

La quantité d'eau présente dans les dattes mûres joue un rôle crucial dans leur stabilité pendant le stockage. Selon **Beuchat (1981)**, les dattes sèches au stade tamar sont microbiologiquement stables lorsque leur activité d'eau (a_w) est inférieure à 0,6. On obtient cette valeur critique en retirant l'eau du fruit frais. Lorsqu'il y a une faible humidité relative, les dattes absorbent peu d'eau. Cependant, lorsque $a_w > 0,5$, une quantité plus importante d'humidité est absorbée. On a également signalé une légère disparité dans la capacité de sorption des différentes variétés.

II.6.2. pH

La datte présente un pH légèrement acide, qui oscille entre 5 et 6. Ce pH peut nuire aux bactéries mais est favorable à la croissance de la flore fongique (**Reynes *et al.*, 1994**). **Acidité**

La datte possède une acidité faible, allant de 2,02 à 6,3 g d'acide par kilogramme (**Bessas, 2008**).

II.6.3. Les sucres

Des sucres digestibles (70%) sont présents dans la pulpe des dattes, principalement le glucose, le saccharose et le fructose. En raison de leur teneur élevée en sucres, ces fruits constituent une source importante d'énergie, et environ 100 g de chair peut fournir 314 kcal d'énergie (**Al farsi et Lee, 2008**).

II.6.4 Les fibres alimentaires

Selon **Manickavasaga *et al.*, (2012)**, les dattes sont également une excellente source de fibres alimentaires, en particulier les fibres insolubles. Elles offrent entre 6,3 et 10,9 g de fibres totales par 100 g de datte fraîche, en fonction de la variété, du degré de maturité, du lieu de croissance et des méthodes d'analyse utilisées.

II.6.5 Les protéines

Les dattes contiennent une faible quantité de protéines, allant de 2,5 à 5,6 %. Malgré leur faible apport en protéines, les dattes peuvent être bénéfiques pour l'alimentation humaine en raison de leur niveau élevé d'acides aminés essentiels (**Salem et Hegazi, 1971**).

II.6.7 Les lipides

En général, la quantité de lipides présente dans les dattes est faible, allant de 0,1% à 3,25% du poids frais, et se concentre principalement dans la peau. On retrouve principalement l'acide caprylique dans la chair des dattes, suivi des acides linoléique, aurique, pelargonique et myristique (**Manickavasaga *et al.*, 2012**).

II.6.8 Minéraux

La concentration de cendres dans les dattes est faible, allant de 0,70 à 1,99 g/100g de dattes, le potassium étant le plus négligé, avec 413-1164 mg/100g, suivi du calcium (15-89,9 mg/100g), du sodium (2,4-287 mg/100g) et du phosphore (59-104 mg/100g). Selon **Manickavasaga *et al.*, (2012)**, les dattes sont également considérées comme une source riche en micronutriments tels que le fer (0,3-6,03 mg/100g), le zinc (0,20-2,41 mg/100g), le magnésium (47-89,6 mg/100g), le cuivre (0,10-2,38 mg/100g) et le manganèse (0,2-1,20 mg/100g).

Les dattes ne fournissent pas une quantité significative de vitamines, notamment les vitamines liposolubles. Les dattes sont généralement une bonne source de vitamines B1, B2 et B9. On estime que les dattes sèches contiennent une faible concentration de vitamines C et A (**Manickavasaga *et al.*, 2012**). On estime que les dattes sèches contiennent une faible concentration de vitamines C et A (**Manickavasaga *et al.*, 2012**).

II.7. La flore microbienne des dattes

La température, le contenu en oxygène et l'humidité sont les facteurs les plus importants qui influencent le type de croissance microbienne et la détérioration des aliments pendant le stockage. La détérioration microbienne des dattes peut être causée par des levures, des moisissures et des bactéries, principalement des espèces de levures du genre *Zygosaccharomyces* qui sont plus tolérantes à une teneur élevée en sucre.

La détérioration des dattes par fermentation et par la croissance de moisissures augmente avec

l'augmentation de la teneur en eau. Par conséquent, la température de stockage et la teneur en eau sont les principaux facteurs qui influencent la durée de conservation des dattes . L'énumération des micro-organismes responsables de la détérioration des dattes fraîches pourrait conduire à l'élaboration de processus de stockage qui préviennent la détérioration des dattes (**Al Jasser, 2010**).

Hasnaoui et al (2010) ont indiqué dans leur étude qu'aucun coliforme, Bacillus, bactérie lactique ou Staphylococcus n'a été détecté dans aucun des échantillons (<30 ufc/g). Des levures et des moisissures étaient présentes dans tous les échantillons. Les moisissures sont considérées comme les principaux agents causatifs de la détérioration des dattes à tous les stades de maturation sur les arbres ainsi que pendant le stockage et la transformation.

En raison de la teneur élevée en sucre (61-83 %) et de la faible activité de l'eau ($a_w \leq 0,90$) dans la flore bactérienne endogène n'a pas pu se développer. La plupart des bactéries ne peuvent pas croître lorsque l' a_w est inférieure à 0,90. En dessous de cette valeur, la production de toxines est également inhibée. La plupart des levures et des moisissures sont inhibées pour des valeurs d' a_w comprises entre 0,80 et 0,88. Cependant, certaines levures osmophiles sont encore capables de se développer à des a_w aussi basses que 0,60. Bien que la croissance des micro-organismes soit principalement influencée par l' a_w , la nature des solutés joue également un rôle (**Hasnaoui et al., 2010**).

Chapitre III

Matériels et Méthodes

Chapitre III: Matériels et méthodes**III.1. L'objectif de travail**

L'objectif de travail est d'isoler des levures à partir de deux variétés des dattes et de 3 types de miels puis les identifier et étudier leur effet antifongique vis à vis des moisissures d'altération des aliments (*Aspergillus niger* et *Penicillium digitatum* et *Rhizopus stolonifer*) et l'effet antibactérien sur des bactéries isolées à partir des viandes *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus Epidermidis* et *E. Coli* responsables des intoxications alimentaire.

III.2. Matériels et Méthodes**III.2.1. Matériels et produits chimiques**

Notre travail est réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie à l'université la liste des matériels et produits chimiques utilisés durant l'expérimentation sont mentionnés sur le tableau 3

Les informations relatives aux échantillons des dattes sont indiquées dans le tableau suivant

Tableau 06: Les variétés des dattes choisis

L'échantillon	Variété	La zone de collecte
01	Deglet nour <i>Phoenix dactylifera</i>	Tolga Biskra
02	Mech degla <i>Phoenix dactylifera</i>	Tolga Biskra



Figure 07: Les variétés des dattes Deglet Nour et Mech degla (photos personnelles)

✓ La situation géographique de la zone

La wilaya de Biskra est localisée au sud-est algérien entre la région des Aurès et les Zibans et s'étend sur une superficie de près de 2 167,20 km².



Figure 08: La situation géographique de Biskra

III.2.2. Matériels biologiques

Les types de miel choisis ainsi que la date de récolte et l'origine florale sont mentionnés sur le tableau :

Tableau 07: Des informations relatives aux échantillons de miel

L'échantillon	Type de miel	L'origine florale	La zone de collecte	La date de récolte
01	Eucalyptus	Eucalyptus et Nérum l'aurie rose	DjediouiaRelizane	Juin /juillet 2021
02	Fleure d'orange	Fleure d'orange	Blida	Mars 2020
03	Miel de sidr	Sidr	MaghniaTlemcen	Décembre 2023

✓ La situation géographique des zones d'étude

Tlemcen : est située au nord-ouest de l'Algérie, à 520 km à l'ouest d'Alger, à 140 km au sud-ouest d'Oran et, proche de la frontière du Maroc, à 76 km à l'est de la ville marocaine d'Oujda. Blida est Située au pied de l'Atlas tellien, à 260 mètres d'altitude, la wilaya de Blida s'étend sur une superficie de 1 478,62 km².

Relizane : se situe au nord-ouest de l'Algérie à 135 km à l'est d'Oran



Figure 09: Situation géographique des Zones d'échantillonnage

III.3. Méthodes

III.3.1. Isolement des levures à partir des dattes

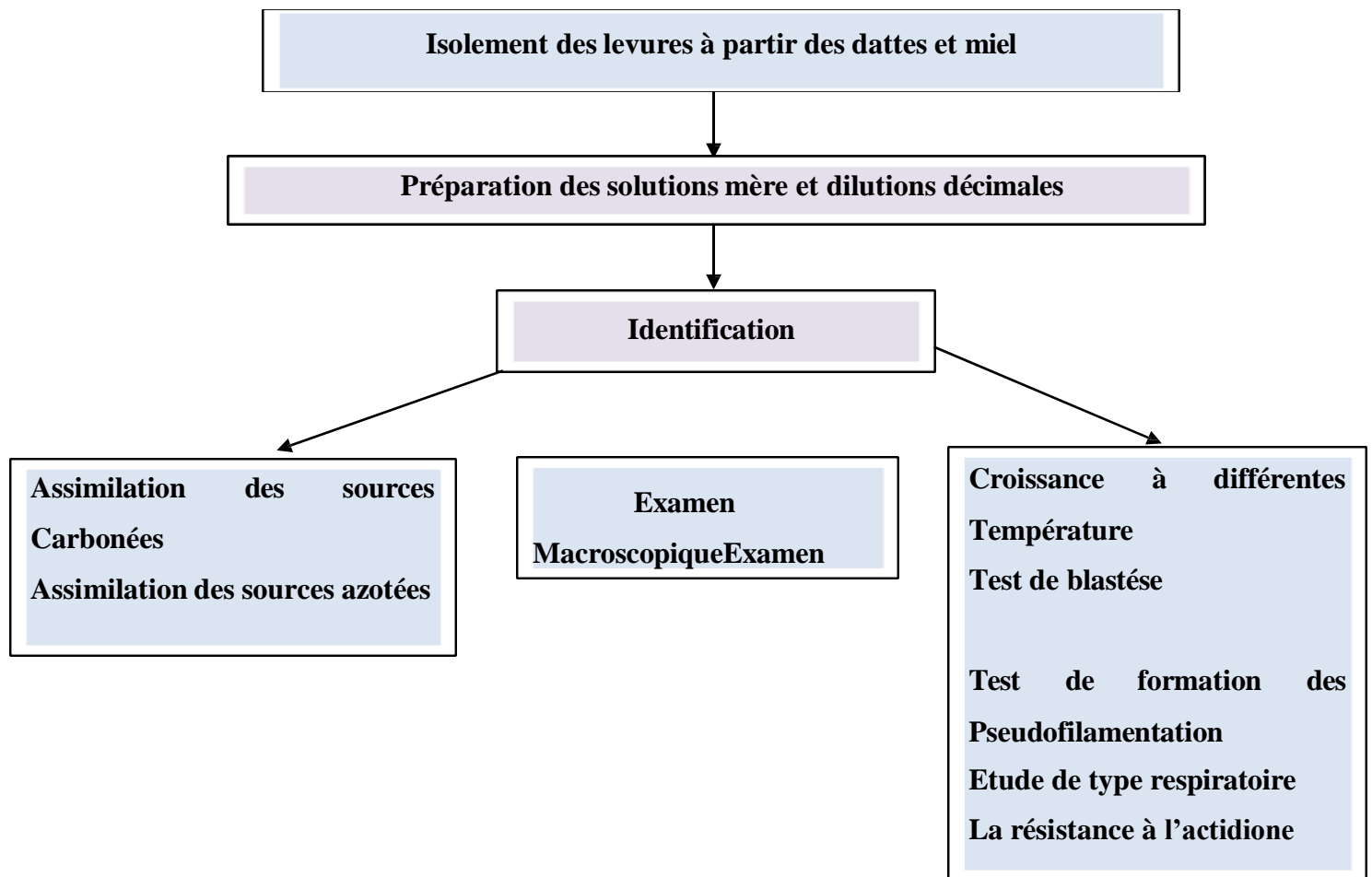


Figure 10: Protocoles d'isolement et d'identification des levures.

III.3.1.1. Le choix de milieu de culture

Selon (Mossel, 1970), la gélose glucosée à l'extrait de levure et à l'oxytétracycline (Oxytétracycline Glucose-Agar) est utilisé pour détecter les levures et les moisissures présentes dans le lait, les produits laitiers et les aliments. Ce milieu est largement employé dans le domaine de la microbiologie alimentaire.

III.3.1.2. Préparation de mout des dattes

Mode opératoire

Dans des conditions stériles, 20g de l'échantillon a été pesé et mélangé avec 180 ml de l'eau distillée ont été ajoutés. Le broyage est interrompu après dissolution complète des dattes.

III.3.1.3. Délutions et ensemencement

La solution obtenue est diluée plusieurs fois par série de dilution jusqu'à 10^{-3} (Figure 11). Les ensemencements sur les boîtes Pétris ont été réalisés à raison de 0.1 ml par boîte puis incubés à 27°C (Figure 12). La plupart des levures se développent à des températures allant de 20 à 28°C (Koenig, 1995).



Figure 11: La solution mère et dilutions décimales (photos personnelles)



Figure 12 : Ensemencement des solutions mères et les dilutions (photos personnelles)

III.3.2. Isolement des levures à partir du miel

III.3.2.1. Préparation de la solution mère

Une suspension de l'échantillon est constituée par 9 g du miel et 91ml d'eau distillée et puis la suspension est agitée pendant 2 min

III.3.2.2. Préparation des dilutions décimales

Après homogénéisation, une série de dilutions décimales (jusqu'à 10^{-3}) est préparée à partir de la solution mère.

III.3.2.3. Recherche et dénombrement des levures et des moisissures (AFNOR 08- 059-1995).**III.3.2.3.1. Principe**

L'ensemencement en surface du milieu de culture, avec une quantité Déterminée de l'échantillon du miel à analyser, que sa préparation qui Commence de la solution mère (10^{-1}) jusqu'à dilution (10^{-3}). L'incubation des boîtes à 25 °C, en aérobiose pendant 5 jours.

III.3.2.3.2. Mode opératoire

Couler dans les boîtes environ 15 ml du milieu OGA refroidi entre 44°C et 47 °C à l'aide d'un bain d'eau.

Transférer à l'aide d'une pipette stérile, 1 ml de la suspension mère (sur la surface). Prendre une autre boîte de Pétri stérile, ensuite transférer à l'aide d'une nouvelle Pipette stérile 1 ml de la première dilution décimale de l'échantillon Recommencer les opérations décrites avec les dilutions suivantes. Avant Chaque prélèvement pour l'ensemencement, homogénéiser le contenu du tube.

À l'aide de l'agitateur de type vortex. Par un mouvement de « 8 » mélanger soigneusement l'inoculum et le milieu et laisser se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface fraîche et Horizontale. Incuber les boîtes pendant 5 jours à 25°C.

III.4. Identification des levures

La détermination dépend de la structure macroscopique des cultures et de leur aspect microscopique, mais principalement de tests physiologiques, immunologiques ou biochimiques (Bouchara et al., 2010).

III.4.1. Examen macroscopique

Les colonies de levures ont été choisies en fonction des critères suivants : la taille (Grande, moyenne, petite), la couleur (Blanche, rose, orange, jaune), la forme (Plate, bombée, arrondie), la consistance ou la texture des colonies (Lisse, rugueuse, duveteuse, luisante, épaisse, collante) (Hamed, 2009).

III.4.2. La purification

Après l'isolement les colonies ont été purifiées par des repiquages afin d'obtenir des colonies homogènes des mêmes espèces.

III.5. Identification biochimique

III.5.1. Assimilation des sources carbonées

Selon (Guiraud ,2003), le test d'assimilation des sources carbonées est pratiqué sur un grand nombre de substrats, Nous avons testé le saccharose, le lactose, le maltose, le galactose, le glucose, l'amidon, le glycérol, l'acide lactique, l'acide citrique, rhamnose. Le test le plus utilisé consiste en une culture sur le milieu YNB (Yeats nitrogène base) (Voir annexe) qui ne contient pas de substrats carbonés.

L'assimilation se traduit par un développement de colonies dans la zone de diffusion de ce composé. Un témoin est effectué sans source de carbone.

Selon Koenig (1995), la technique la plus courante est la technique auxanographique : 1 ml d'une suspension levurienne est placé dans une boîte de pétri, puis le milieu YNB fondu à 45°C est coulé et agité de façon à obtenir un mélange homogène. Une fois le milieu refroidi et solidifié, les sources de carbone à tester sont déposées à la surface du milieu gélosé sous forme de disques en papier imprégnés de la source de carbone souhaitée.

Les boîtes sont incubées à 28-30°C. La lecture est possible après 24 à 48 heures.

III.5.2. Assimilation des sources azotées

Selon (Bouix et Leveau, 1980), ce test est pratiqué comme le test d'assimilation des sources carbonées mais avec un milieu ne contenant pas d'azote. Le milieu utilisé est le yeast carbone base YCB.

Après l'inoculation, nous avons déposé sur le milieu YCB, des disques en papier stériles imprégnés de la solution de nitrate de potassium (KNO_3) à 20 % (Koenig, 1995). La croissance des levures autour du disque indique l'assimilation du nitrate de potassium.

III.6. Etude des caractères physiologiques

III.6.1. Résistance de l'actidione sur milieu Sabouraud

L'Actidione, ou Cycloheximide, est un antibiotique qui cible les *champignons* commensaux ou *saprophytes*, les bactéries et les levures. Sur une gélose Sabouraud, stériliser une colonie de levure avec de l'actidione, puis incubé à 37 °C pendant 48 à 72 heures. D'après (Bouchara *et al.*,2010), toute augmentation de cette zone de culture indique une résistance à l'Actidione.

III.6.2. Test de formation des pseudohyphes (pseudofilamentation)

Ce test permet de mettre en évidence la capacité de la levure testée à produire des pseudohyphes (pseudo-filaments).

✓ Technique

Ensemencer la levure à tester sur la gélose Sabouraud dextrose (Milieu Sabouraud) et incuber à 30°C après de culture de 5 jours. Après incubation, sur une lame propre, mélanger une colonie de la levure avec une goutte du bleu coton au lactophénol. Recouvrir la suspension avec une lamelle. Effectuer une observation sous microscope optique aux grossissements : 10 X puis 40 X. L'observation de petites cellules bourgeonnantes ovoïdes avec une croissance rudimentaire est considérée comme un résultat positif.

III.7. Etude de type respiratoire

Ensemencement dans le tube de gélose semi-inclinée milieu de viande foie (culot + pente). Le culot est classiquement ensemencé par une pique centrale par une pipette Pasteur boutonnée et la pente par stries selon le principe de la gélose inclinée ce test est effectué sur le milieu VF (Viande foie).

III.8. Etude de l'activité antifongique

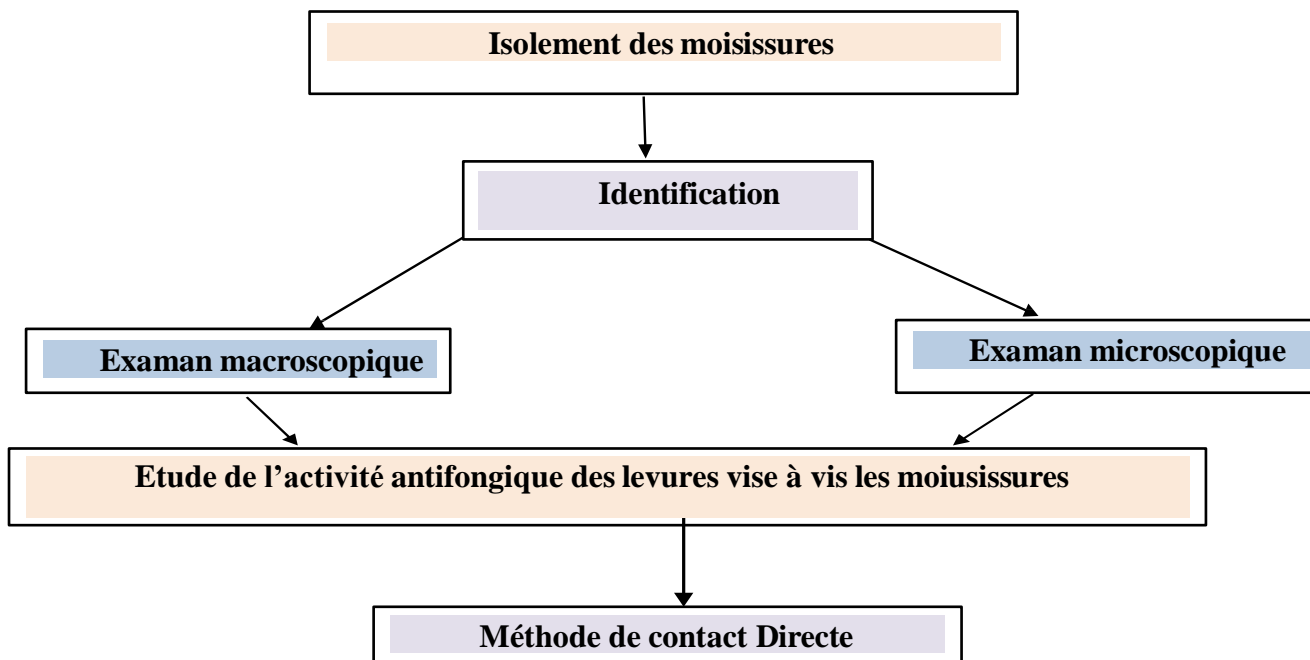


Figure 13: Protocole d'étude l'activité antifongique des levures vis-à-vis des moisissures.

III.8.1 Isolement et identification des agents pathogènes

Les agents pathogènes sont isolés à partir d'un piment (légume : Piment) et fruit d'agrumes (citron) possédant une pourriture verte de post-récolte. Les deux échantillons sont considérés comme foyers pour les moisissures de genre *Penicillium* et *Aspergillus* et d'autres moisissures d'altération des aliments.

➤ Mode opératoire

Un fragment de piment estensemencé au centre de boîte pétri coulée par le milieu PDA. Le mycélium aérien responsable de pourriture de l'agrumes estensemencé au centre de boîte pétri contenant le milieu PDA. Les boîtes pétries sont incubées pendant 7 jours à 25

III.8.2 Identification des moisissures

III.8.2.1 Examen macroscopique

L'objectif était d'observer et de noter une description des mycéliums sur les boîtes de Pétri pendant une incubation de trois à vingt et un jours, en fonction des espèces. La Vitesse de croissance, la couleur du recto et du verso des boîtes, le relief et la texture des mycéliums, la présence d'exsudats, de pigments et de sclérotas sont les principaux éléments observés (Botton 1990 ;Akroum 2012).

III.8.2.2 Examen microscopique

Les *moisissures* ont été examinées microscopiquement en déposant un fragment du mycélium sur une lame contenant une goutte d'eau physiologique. Après une légère extension, la lamelle est déposée avec précaution. Le prélèvement des thalles cassants pouvait être réalisé en utilisant un morceau de ruban adhésif. Les structures typiques des moisissures ont été observées à des grossissements de 10 et 40. On ajoute une goutte de fuchsine ou de bleu de méthylène au liquide de montage pour les mycéliums hyalins ou difficilement observables (**Botton *et al.*, 1990**). Cette phase vise à identifier les moisissures isolées et à identifier leurs structures particulières (leurs clés d'identification) (**Botton *et al.*, 1990 ; Akroum 2012**).

III.8.3 Evaluation de l'activité antifongique des levures vis-à-vis des moisissures isolées

III.8.3.1 Méthode de double culture

Dans cette technique, nous avons ensemencé la levure correspondant à l'agent antagoniste et déposé un disque de 5 mm, dans la même boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Les disques ont été placés sur un axe horizontal à 3 cm de distance. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 5 jours. Le témoin contient le pathogène seul au centre de la boîte de Pétri sur le même milieu PDA.

III.8.3.2 Calcul de taux d'inhibition

L'analyse des résultats de test se fait par l'évaluation de l'activité antifongique en calculant le taux d'inhibition I de l'agent pathogène selon la formule : $I = (C - T / C) \times 100$.

I = taux d'inhibition en % ; C = croissance radiale de l'agent phytopathogène seul en mm (témoin) ; T = la croissance radiale en mm, de l'agent phytopathogène en présence de l'isolat de levure (**Hmouni *et al.*, 1996**).

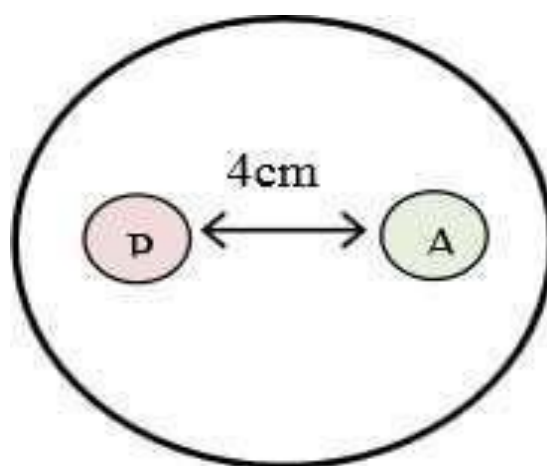


Figure 14: Schéma présentant la confrontation directe (Dendouga, 2017).

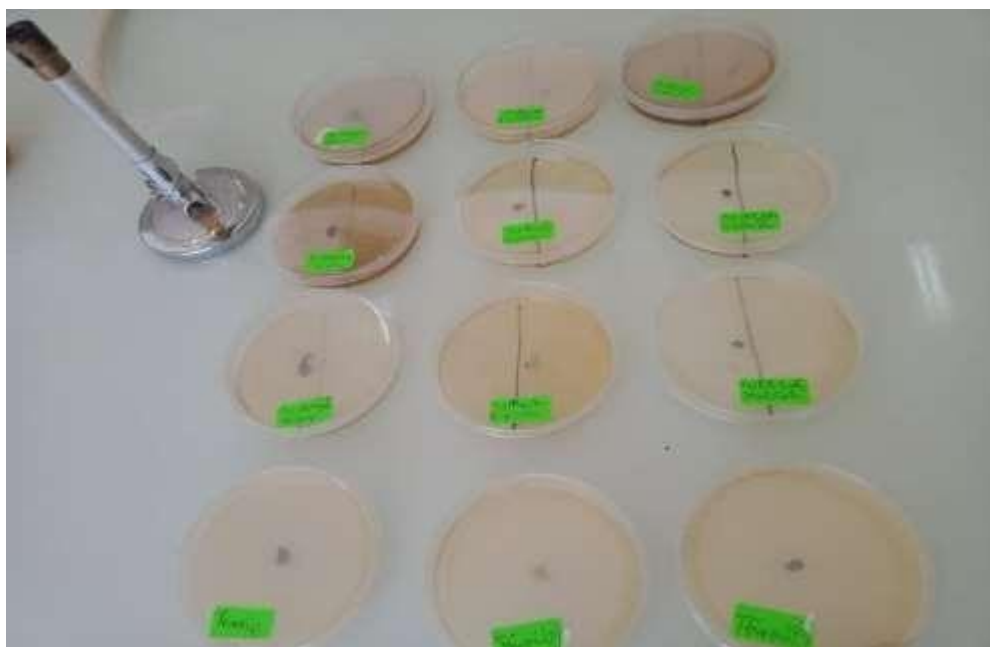


Figure 15: Test de l'effet Antifongique par la méthode de contact directe (photo personnel)

III.9 Etude de l'activité antibactérienne

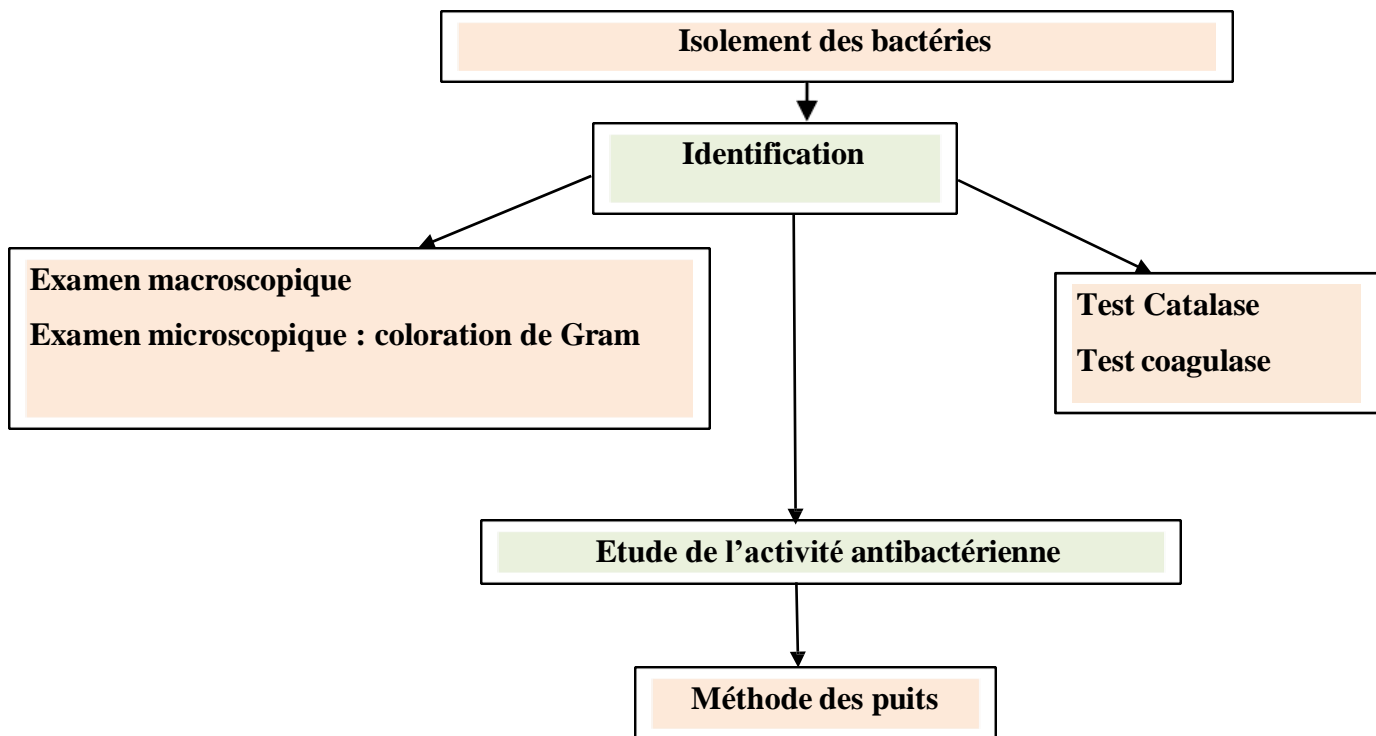


Figure 16: Protocole d'étude de l'activité antibactérienne des levures

III.9.1 Isolement des Bactéries à partir de viande Hachée et poulet Hachée

III.9.1.1 Milieu de culture sélectifs

Gélose Chapman

Le niveau élevé de Na Cl (7,5%) dans ce milieu favorise la prolifération des espèces du genre *Staphylococcus* au détriment des autres bactéries. Son action sur le mannitol, contenant du rouge de phénol (indicateur de pH), est indiquée par la souche isolée.

Selon (Guiraud, 2003), l'utilisation de mannitol avec production d'acide entraîne une transition de couleur du rouge vers le jaune

Le milieu Mac Conkey : Mac Conkey est un Milieu sélectif pour l'isolement des bacilles Gram - . Il inhibe la croissance de la flore Gram+.

III.9.1.1.1. Ensemencement sur milieu Chapman

Mode opératoire

L'ensemencement est effectué par stries longitudinale. Ces boîtes de Chapman seront ensuite incubées à une température de 37°C pendant une période de 24 à 48 heures.

III.9.1.1.2. Ensemencement sur milieu Mac Conkey**III.9.1.1.2.1 Identifications des bactéries****✓ Etude macroscopique**

Même opération utilisée sur le milieu Chapman. En se basant sur les aspects morphologiques (taille, couleur, surface, profondeur...) (**Kacem et Karam, 2006 ; Cheriguene *et al.*, 2007**)

✓ Examen microscopique

La première étape de l'identification du genre consiste à étudier cet aspect en utilisant la coloration de Gram. L'observation microscopique des bactéries permet d'obtenir des informations sur leur forme : cocci ou bacille (**MARCHAL, 1992**). Et leur organisation, ainsi que sur leur classification en deux grands groupes : les Gram positifs et les Gram négatifs (**DIOP *et al.*, 2007**).

✓ Mode opératoire

Avant de procéder à la coloration, un frottis doit être préparé comme suit : - étaler sur une lame propre une colonie prélevée à l'aide d'une anse à boucle dans une goutte d'eau physiologique ; Puis la faire sécher à la flamme ensuite vous fixez le frottis. Une fois refroidi, nous entamons la coloration de Gram : - recouvrir le frottis avec le violet de Gentiane et laisser agir pendant une minute; - rejeter le colorant et recouvrir la lame avec le Lugol, laisser agir 45 secondes puis le renouveler avec la même durée;- rejeter et décolorer à l'alcool pendant 30 secondes; - rincer la lame avec de l'eau; - recouvrir le frottis avec de la fushine et laisser agir une minute; - rincer la lame et laisser sécher avant de passer à l'observation microscopique à l'immersion (au G x 1000)

III.9.1.1.2.2 Identification biochimique

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques (**GUIRAUD, 1998 ; FRENEY *et al.*, 2007**).

✓ Test de catalase

Chez les bactéries qui possèdent un métabolisme oxydatif, il y a une catalase dans le système respiratoire, qui décompose l'eau oxygénée en suivant la réaction suivante. L'objectif principal de ce test est de distinguer les bactéries lactiques (catalase-) des autres bactéries (catalase +). Sur une lame propre, on suspend une colonie avec une ou deux gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène (10 volumes). L'effet positif se manifeste par la formation immédiate de bulles de gaz (O₂).

Selon (**Marchal *et al.*, 1991**), on suppose que les bactéries Gram positives et catalase négatives sont des bactéries lactiques.

✓ Test de coagulase

Il est nécessaire de mesurer l'activité coagulase libre à partir d'une culture dans un milieu non inhibiteur.

Mode opératoire

Pour chaque colonie sélectionnée, utilisez une pipette Pasteur pour prélever une partie et la placer dans un tube de bouillon Coagulase, puis incubez à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures. Le bouillon coagulase est utilisé comme substrat de cette enzyme, à défaut, on prélève 0,5 ml de chaque culture, puis on les ajoute à 0,5 ml du bouillon coagulase des tubes stériles, puis on incube à 37°C. On examine la coagulation après 4 à 6 heures. Le test est considéré comme positif lorsqu'on observe une prise en masse totale du bouillon coagulase ou un caillot moins compact.

III.9.2 Evaluation de l'activité antibactériennes des levures vis à vis les bactéries isolées**III.9.2.1 La méthode des disques**

La méthode utilisée est la méthode des disques en agar (Wayne, PA, 1997). Mais légèrement modifié. En effet, nous avons substitué les disques de papier Whatmane par des disques en agar de 6 mm de diamètre imprégné par la suspension levurien de la souche testée et les déposés dans les boîtes pétri contenu le milieu PDA. Après 24h d'incubation à la température de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, l'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre en mm de la zone d'inhibition autour des disques.

Chapitre IV

Résultats et Discussions

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1. Identification des levures

Les souches de levures isolée à partir du miel sont : *Zygosaccharomyces rouxii*, *Rhodotorulla mucilaginosa*, *Kluyveromyces marxianus*

Les souches de levures isolée à partir des dattes sont : *Zygosaccharomyces rouxii*, *Rhodotorulla mucilaginosa*

IV.1.1. Aspect Macroscopique

Il semble que Nos échantillons de miels et dattes contiennent une diversité de levures, comme présentent les différentes couleurs et apparences des colonies obtenues à partir de la solution mère et des dilutions (Tableau 09)

La présence de colonies beiges, roses, transparentes avec un aspect brillant crémeux indique une variété de souches de levures présentes dans nos échantillons. Les colonies beiges pourraient indiquer la présence de levures du genre *Zygosaccharomyces*, qui sont couramment associées à la fermentation du miel.

Nous avons constaté la présence des colonies des levures de différentes couleurs et aspects les résultats sont mentionnées dans le tableau 08 :

Tableau 08 : Description des colonies de levures trouvées dans le miel

L'échantillon	Description des colonies des levures	
Miel de Sidr	Solution Mère	3 colonies de couleur Beige /Rose Brillante crémeuse
	D2	Colonie de couleur beige crémeuse brillante
	D3	Colonie transparente Platte lisse
Miel D'eucalyptus	Solution Mère	Beige crémeuse lisse
	D2	Rose lisse crémeuse avec un biofilm colonise le milieu
	D3	Transparente lisse plate
Miel d'orange	Solution Mère	Colonie beige crémeuse
	D2	Colonie rose / jaune avec un biofilm colonise le milieu
	D3	Colonie transparente

L'échantillon	Variété Deglette-Nour	Variété Mech-Degla
	D2	Colonie brillante beige crémeuse
	D3	Colonie brillante beige crémeuse
	Solution mère	Colonie brillante beige crémeuse
	D2	Colonie brillante beige crémeuse
	D3	Colonie brillante beige crémeuse

Tableau 09: colonies des levures présentes dans les dattes variétés Deglette- Nour et Mech-Degla

Les colonies roses pourraient être dues à d'autres souches de levures de genre *Rhodotorella*, Cette levure est un eucaryote saprophyte qui se reproduit en formant des asques et des ascospores, qui présente les caractéristiques de la plupart des levures et qui existe à l'état unicellulaire et non hyphalique. *R. mucilaginosa* est omniprésente dans l'environnement écologique avec une large distribution (Zhao *et al.*, 2019), et pourrait même être séparée des zones contaminées ou polluées, ou en tant qu'endophytes exister dans le sol de la rhizosphère des plantes (Saha et Seal, 2015) tandis que les colonies transparentes pourraient être le résultat de levures non pigmentées ou qui produisent des métabolites incolores.

Il est intéressant de noter ces diverses caractéristiques de la morphologie des levures pour les différents types de miel. Selon (GUIRAUD et GALZI 1980), il existe une variabilité dans les caractéristiques morphologiques des colonies en fonction des espèces de levures, ainsi que des conditions de culture telles que la température, le pH et le milieu (LECLERC *et al.*, 1983).



Figure 17: Aspect macroscopique des colonies des levures

IV.1.2. Aspect Microscopique des dattes

Souche 1 : colonie beige **Souche 2** : colonie rose jaune **Souche 3** : colonie transparente

Tableau 10: Description de l'aspect microscopique des colonies des dattes

La souche	Aspect microscopique
Souche 1	Cellules ovales, multiplication par bourgeonnement
Souche 2	Cellules rondes à ovales sphérique, multiplication par bourgeonnement
Souche 3	Cellules rondes, multiplication par bourgeonnement

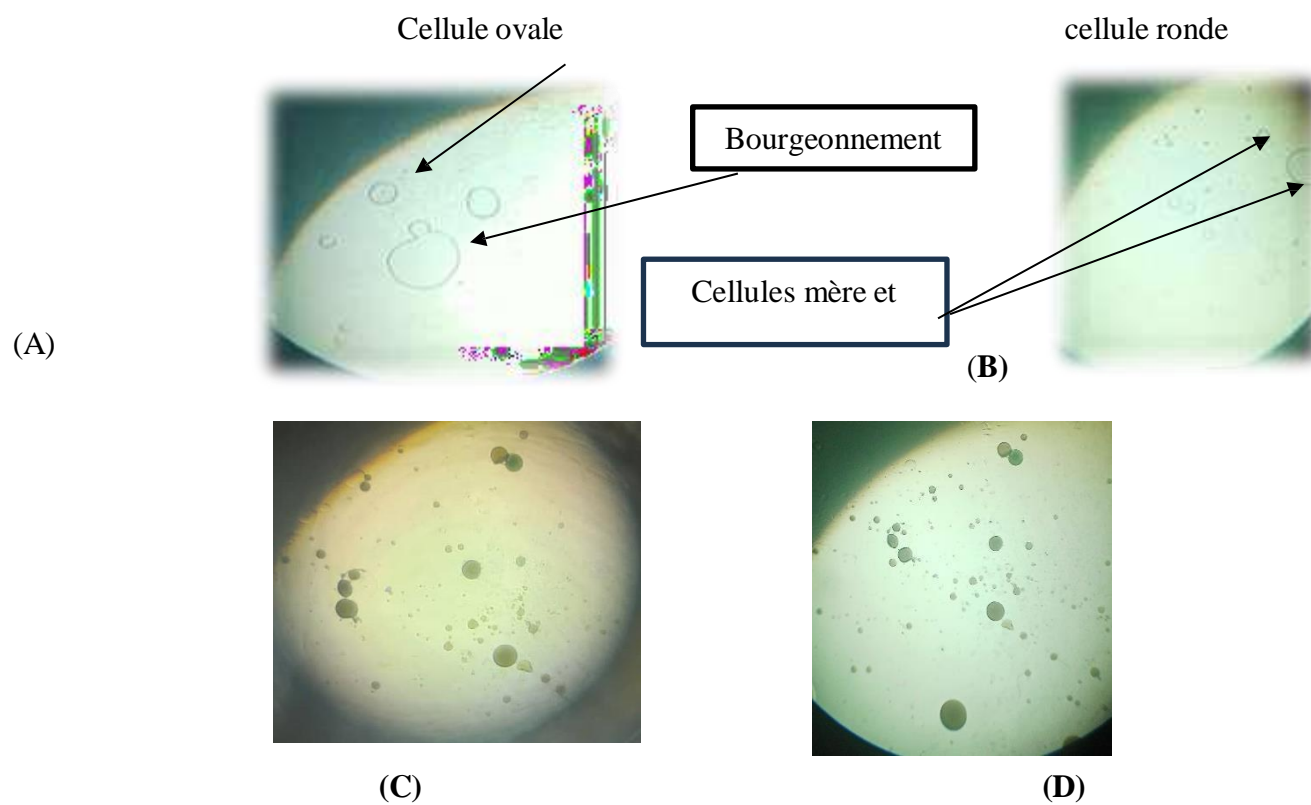


Figure 18: aspect microscopique des colonies des levures (A) souche1 Gr ×25 (B) Souche 2 Gr×25 (C) et(D) souche 3 Gr×40

IV.2. Etude des caractères physiologique

IV.2.1 physiologique Test de filamentation

Au sein des colonies étudiées, les résultats du test de filamentation des levures montrent une diversité de réactions morphologiques.

Le fait qu'il y ait des colonies beiges et roses et transparentes avec pseudo-mycélium suggère qu'un type de structure cellulaire existe au sein de ces souches de levure.

La variété des réactions morphologiques observées chez les levures est mise en évidence par ces résultats, ce qui peut avoir des conséquences significatives en ce qui concerne l'identification des souches

IV.2.2. La résistance à l'actidione

Les résultats du test de résistance des levures à l'actidione indiquent une variation dans la sensibilité des colonies à cet agent antifongique. Voici une interprétation possible de ces résultats:

Les colonies de levures beige qui sont résistantes uniquement à de faibles concentrations d'actidione peuvent être considérées comme relativement sensibles à cet antifongique.

Les colonies de levures roses jaunes qui sont résistantes à de faibles concentrations et partiellement résistantes à une concentration plus élevée (0,5 ml) montrent une résistance modérée à l'actidione. bien qu'elles puissent toujours présenter une certaine sensibilité à des concentrations plus élevées.

La colonie de levure transparente qui est résistante à des concentrations plus élevées (0,2 et 0,5 ml) montre une résistance significative à l'actidione. Cela suggère que cette levure est moins sensible à cet agent antifongique

IV.2.3. Type respiratoire

Le test de type respiratoire des colonies de levures révèle une variété dans les préférences respiratoires des différentes colonies étudiées. La colonie beige qui a la capacité de se développer à la fois en présence et en absence d'oxygène est considérée comme aéro-anaérobie, ce qui laisse entendre qu'elle est adaptable à différentes conditions environnementales. La capacité de cette souche peut être bénéfique dans des environnements changeants où les niveaux d'oxygène peuvent fluctuer.

La colonie rose, en revanche, qui ne se développe qu'en présence d'oxygène, est considérée comme aérobie. Cela suggère une tendance à la respiration aérobie et laisse entendre que cette souche est plus adaptée aux milieux oxygénés.

La variété des stratégies respiratoires chez les différentes souches de levures est mise en évidence par ces résultats, ce qui peut témoigner de leur capacité à s'adapter à des niches écologiques spécifiques et à des conditions environnementales variables.

IV.2.4. La résistance à la température

Les résultats montrent que les levures réagissent de manière variable à différentes températures de croissance. À 4 °C, on observe une diminution de la croissance des levures, ce qui est en accord avec les conditions de réfrigération qui sont généralement défavorables à la croissance des microbes.

La croissance est moyenne à 28 °C, ce qui laisse entendre que cette température est relativement neutre pour les levures, mais pas optimale pour faciliter leur croissance. La température optimale pour la croissance est de 37 °C, ce qui correspond souvent à la température corporelle de l'homme. Finalement, à une température de 50°C, la croissance est arrêtée, L'incapacité des levures à croître à une température élevée de 50°C est souvent due à leurs limitations thermotolérantes. Plusieurs facteurs peuvent expliquer pourquoi les levures ne peuvent pas se développer à 50°C comme la dégradation des protéines et des membranes, l'inactivation des enzymes, le stress thermique, la déshydratation.....etc. La plupart des levures ne sont actives qu'entre 15°C et 35 °C (Djelti et Lassal, 2017).

IV.3. Identification Biochimique

IV.3.1 Assimilation des sources Azotées

Il est intéressant de noter que toutes les levures isolées ne semblent pas assimiler le néphthol comme source d'azote. Cela pourrait être dû à des différences dans les mécanismes métaboliques. Il y a plusieurs raisons possibles pour lesquelles certaines levures isolées pourraient ne pas assimiler le néphthol comme source d'azote comme la spécificité des enzymes, la répression métabolique et l'adaptation à l'environnement.

La synthèse des composés azotés structuraux et fonctionnels de la cellule, dépend de l'assimilation des formes oxydées ou réduites car les levures ne peuvent pas fixer l'azote libre. Par ailleurs, l'assimilation des ions d'ammoniums (NH_4^+) est largement répandue chez ces dernières. Cependant, d'autres espèces levuriennes se caractérisent par une capacité à utiliser les nitrates (NO_3^-) et d'autres composés, tels que les acides aminés, l'urée, la biotine et les bases puriques et pyrimidiques, comme source d'azote (Bouix et Leveau, 1991 ; Berber, 2017).

IV.3.2. Assimilation des sources carbonées

Il semble que les levures isolées que nous avons trouvées possèdent une capacité polyvalente à assimiler différentes sources de carbone, notamment le glucose, le fructose et le lactose.

Cette capacité peut être un atout dans divers contextes, que ce soit en biotechnologie, en fermentation alimentaire ou dans d'autres domaines de la recherche. La capacité d'une levure à utiliser plusieurs sources de carbone peut être un critère important dans le choix d'une souche pour des applications spécifiques.

Les levures étant hétérotrophes ont besoin pour leur croissance d'une source de carbone qui est également leur source d'énergie. Le carbone constitue 50% du poids sec de la levure (**Leveau et Bouix, 1993 ; Bennamoun, 2017**). Certaines levures peuvent utiliser une large gamme de substrats carbonés, mais d'autres assimilent seulement un petit nombre de composés (**Bourgeois et Leveau, 1991 ; Berber, 2017**).

Tableau 11: caractéristiques des levures isolées dans le miel et des dattes

souche	Aspect Microscopique Et Macroscopique	Test de filamentation	Type respiratoire	Résistance à l'actidione	Assimilation des sources carbonées	Assimilation des sources azotées
S1	Couleur beige Aspect crémeux Cellules ovales multiplication par bourgeonnement	<i>Pseudomycellium</i>	Apéro- anaérobie	Résistante uniquement à faible concentration	Glucose + Fructose + Lactose +	-
S 2	Couleur rose Aspect brillant Cellules rondes multiplication par bourgeonnement	<i>Pseudomycellium</i>	Aérobie	Résistantes à de faibles concentrations et partiellement résistantes à une concentration plus élevée	Glucose + Fructose + Lactose +	-
S 3	Couleur Transparente Aspect brillant Cellules rondes à ovales multiplication par bourgeonnement	<i>Pseudomycellium</i>	Apéro- anaérobie	Résistante à des concentrations plus élevées (0,2 et 0,5 ml) montre une résistance significative à l'actidione	Glucose + Fructose + Lactose +	-

IV.4. Discussion

IV.4.1 Identification principaux levures

D'après les résultats obtenus d'isolement des levures à partir des échantillons de miel et dattes la souche 1 appartient à *Zygosaccharomyces spp*

D'après nos résultats la souche 2 est identifiée autant que *Rhodotorulla spp*,

Les colonies des levures sont, en général, blanches (très rarement roses ou rouges) et régulières (Guiraud, 1998 ; Belmaziz et Djalal, 2017).

Cette levure très répandue dans la nature, retrouvée au niveau du sol, dans l'air, l'eau, les aliments et produits laitiers (Boubezari, 2005). Cet espèce de levure est considéré comme saprophyte il semble que nos échantillons de miel aient contaminés lors de la processus de production de miel.

La dernière souche (la souche 3) est identifiée comme *Kluyveromyces marxianus* selon les clefs de détermination de (Lodder,1971) et de (Kreger Van, 1984).

IV.4.2. Résultats d'Effet antifongique

IV.4.2.1. Identification des Moisissures

On a obtenu une seule colonie de moisissure à partir d'un citron tandis que deux colonies de moisissures ont été obtenues à partir de légumes de piment E2 (Tableau 12 et 13).

Tableau 12: Aspect macroscopique des colonies des moisissures piment

L'échantillon	Description des colonies
E1	Colonie verte verso jaune avec contour duveteuse poudreuse croissance rapide
E2	Colonie blanche croissance rapide duveteuse Colonie brune à noire poudreuse avec aspect velouté

Tableau13 : Aspect Microscopique des colonies des moisissures citron

Colonie	Description
1	Conidiophores tri verticillé
2	Tête rayonnante globuleuses spores brunâtres
3	Mycélium composé de filaments ramifiés dense

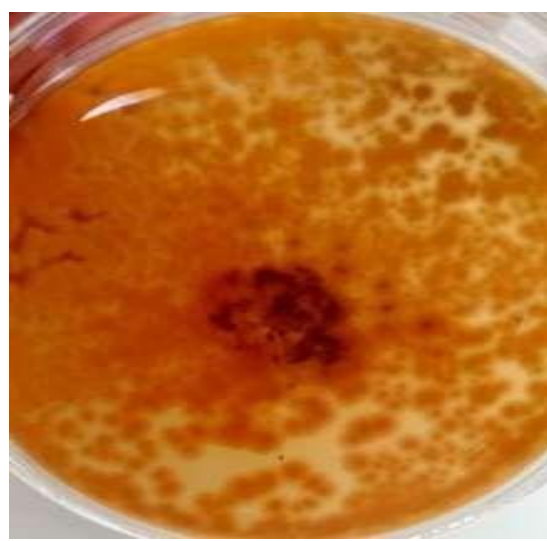
**Figure 19:** Aspect macroscopique des colonies isolées d'échantillon 1 Citron (**Photopersonnelle**)



Figure 20: Aspect macroscopique des colonies isolées d'échantillon 2 Piment (**Photo personnelle**)

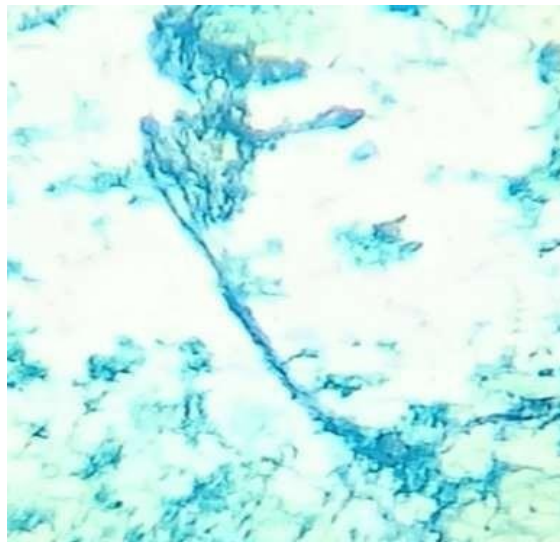


Figure 21: aspect microscopique de colonie 1 citron (**photo personnel**)



Figure 22 : Aspect microscopique de colonie 2 piment (photo personnel)



Figure 23 : Aspect microscopique de colonie 3 citron (photo personnelle)

Les résultats de ces observations microbiologiques fournissent des informations importantes sur les caractéristiques morphologiques et la nature des champignons cultivés.

La colonie verte avec un verso jaune, un contour duveteux et poudreux, ainsi que la présence de conidiophores tri-verticillés, est typique de *Penicillium digitatum* (figure 19 et 21). Les espèces de *Penicillium* sont de saprophytes très répandus dans l'environnement, à l'origine de la dégradation des denrées alimentaires (Chabasse *et al.*, 2002). Les espèces de ce genre se reconnaissent par la partie fertile, portant les spores, qui se développe en forme de pinceau dense. Le conidiophore est simple ou ramifié, et se termine par des groupes de phialides en forme de bouteille (Malloch et Lecomte, 1997). Cette espèce de champignon est couramment associée à la pourriture verte des agrumes et est connue pour sa croissance rapide et sa capacité à produire des spores vertes caractéristiques.

La colonie brune à noire, avec un aspect poudreux velouté et des têtes rayonnantes globuleuses produisant des spores brunâtres, est identifiée comme *Aspergillus niger*. Les colonies d'*Aspergillus niger* peuvent atteindre 3 à 4 cm en 10 jours, le mycélium extensif hyalin en grande partie immergé dans la gélose. Les colonies apparaissent d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires à la maturation (**Quatresous, 2011**). En effet, ce champignon produit également du mycélium aérien blanc et de très nombreuses structures sporifères érigées, pulvérulentes, brun-noir, qui est généralement disposées en cercles concentriques (**Quatresous, 2011**). Le revers des colonies est incolore ou jaune pâle, un exsudat jaune pâle peut être produit en toutes petites gouttelettes (**Tabuc, 2007**). (figure 20 et 22) Cette espèce est fréquemment trouvée dans l'environnement et peut causer des problèmes de contamination dans les industries alimentaires et de fermentation. Ses caractéristiques morphologiques distinctes sont souvent utilisées pour son identification.

Les *Aspergillus* sont des champignons microscopiques qui contaminent les récoltes dans les champs ou pendant la conservation dans les silos ou greniers (**Barros et al., 2005**).

L'aspect microscopique est caractéristique avec la présence de têtes *aspergillaires* (**Galinas, 1995**).

La colonie blanche qui devient par la suite gris à noire à croissance rapide et duveteuse, avec un mycélium composé de filaments ramifiés denses, est caractéristique de *Rhizopus stolonifer* (figure 20).

D'après (**Ehrenb. Vuill, 1902**) *Rhizopus stolonifer* présente des colonies à croissance rapide et extensive, avec une texture cotonneuse de couleur blanche au début et qui devient par la suite gris noirâtre (figure 23)

Ces observations démontrent l'importance des caractéristiques macroscopiques et microscopiques dans l'identification des champignons, ce qui est essentiel pour comprendre leur rôle dans la décomposition, la contamination alimentaire et d'autres processus biologiques

IV.4.2.2. Résultats de Méthode de contact directe

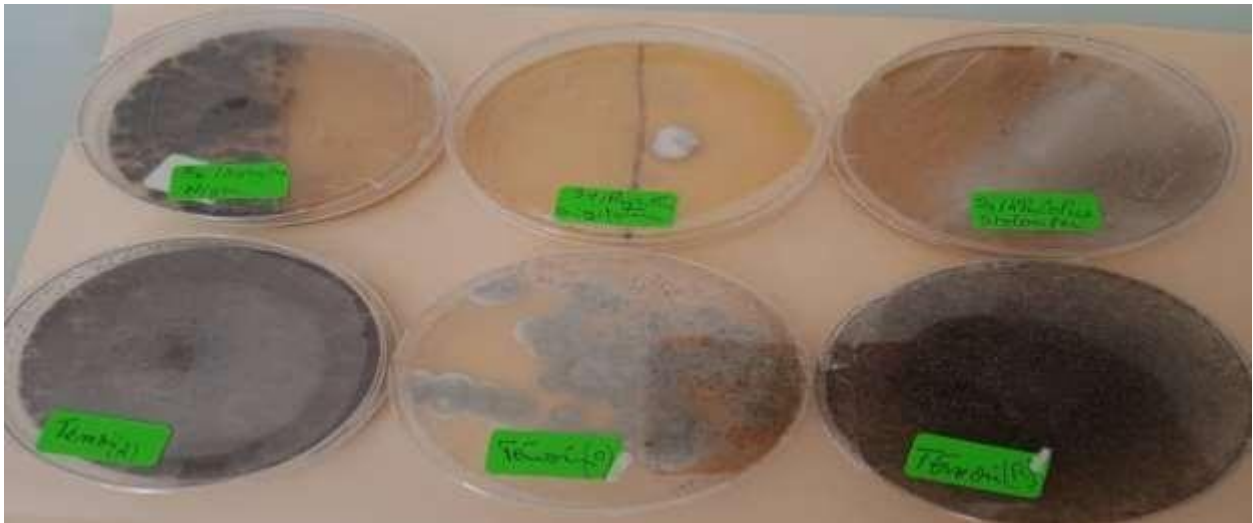


Figure 24: Effet antifongique de *Zygosaccharomyces rouxii* vis à vis *Aspergillus niger* et *Pénicillium digitatum* et *Rhizopus stolonifer* Après 5 jours d'incubation

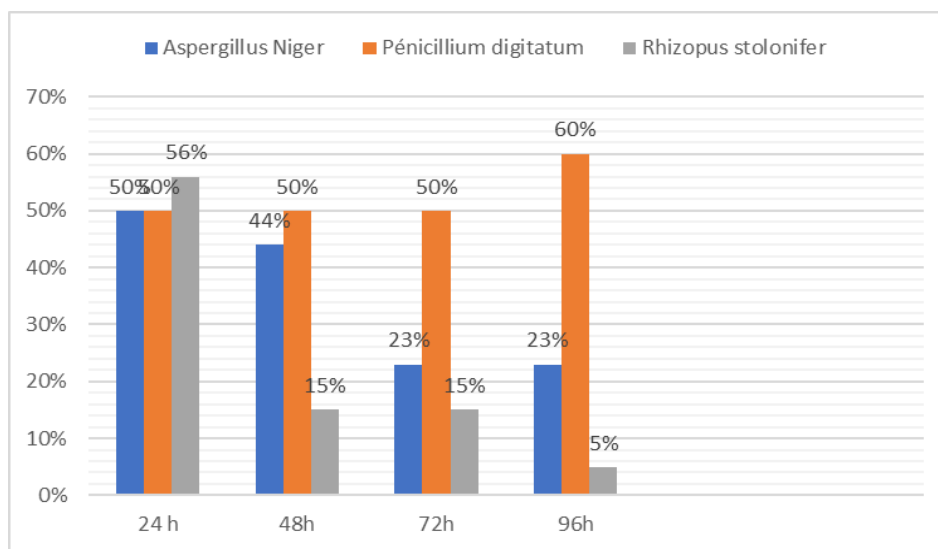


Figure 25: Effet antifongique de *Zygosaccharomyces spp* vis à vis *Aspergillus niger* et *Pénicillium digitatum* et *Rhizopus stolonifer*

En 1963, les chercheurs Bevan et Makover ont découvert que certaines souches de *Saccharomyces cerevisiae* avaient la capacité de tuer d'autres levures de la même espèce (Bevan et Makover, 1963 ; Polonelli *et al.*, 1991). Ils émisèrent l'hypothèse que ces levures "tueuses" ou "killer" produisent une toxine qui provoque la mort des souches qui y sont sensibles.

Ce type ne concerne pas seulement le genre *Saccharomyces*. Il est également présent chez d'autres levures telles que *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Torulopsis*, *Ustilago*, *Williopsis* et *Zygosaccharomyces* (Kurtzman, 1984 ; Polonelli et Morace, 1986 ; Schmitt et Breinig, 2002).

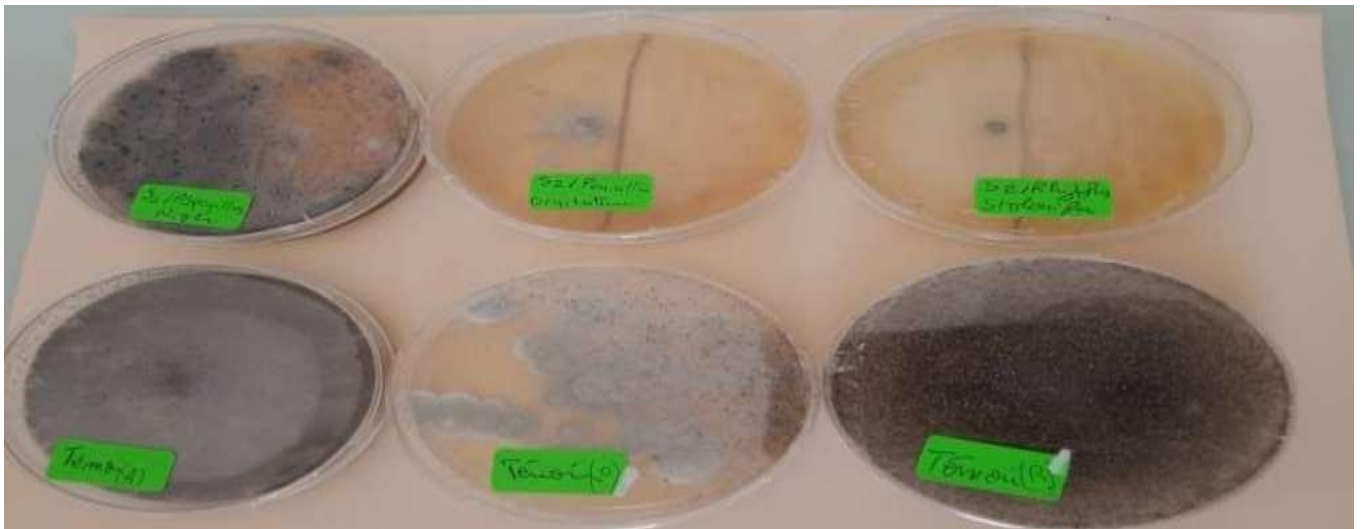


Figure 26: résultat d'effet antifongique de *Rhodotorella spp* vis à vis *Aspergillus niger* et *Penicillium digitatum* et *Rhizopus stolonifer* pendant 96 heures d'incubation

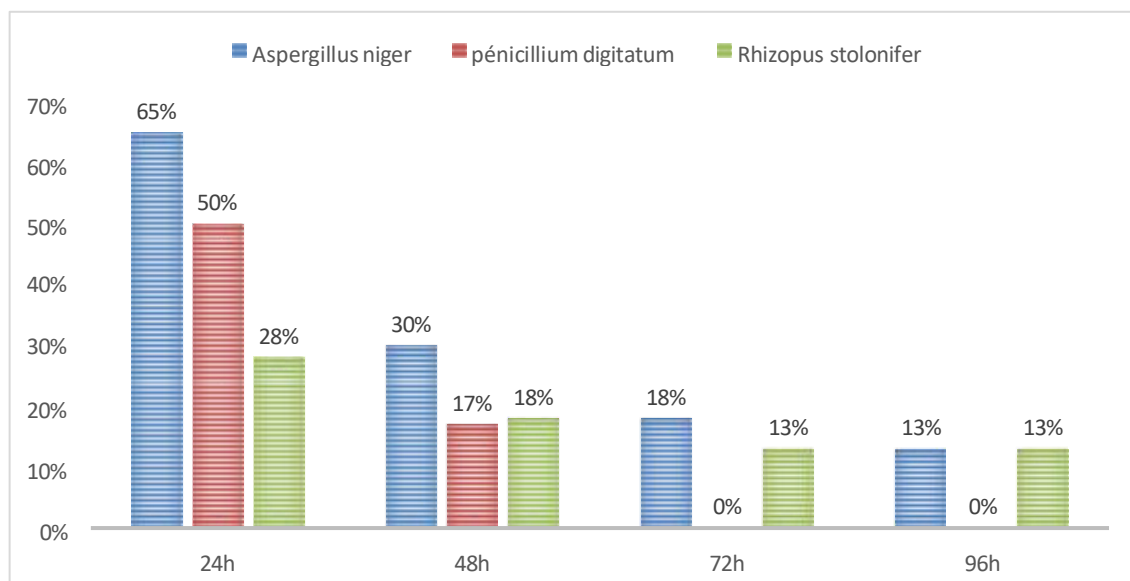


Figure 27: présentation graphique des résultats d'effet antifongique de *Rhodotorella spp* vis à vis *Aspergillus niger* et *Penicillium digitatum* et *Rhizopus stolonifer*

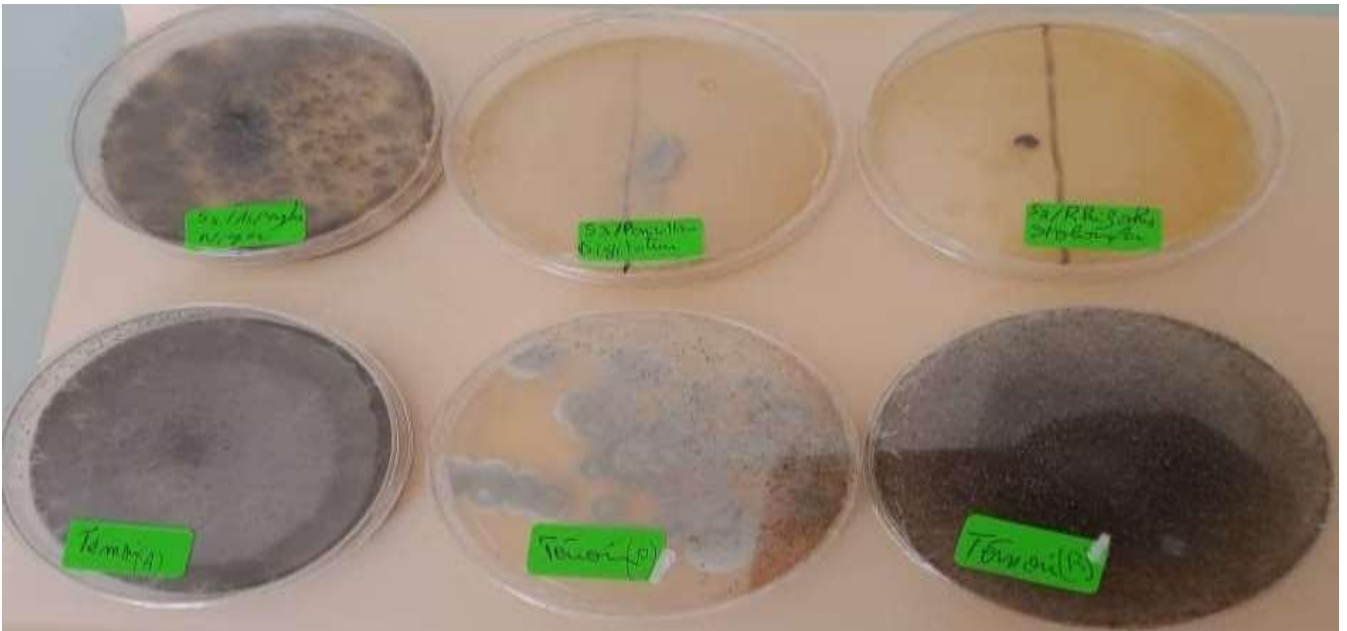


Figure 28: résultat d'effet antifongique de *kluyveromyces spp* vis à vis *Aspergillus niger* et *Pénicillium digitatum* et *Rhizopus stolonifer* pendant 5 jours d'incubation

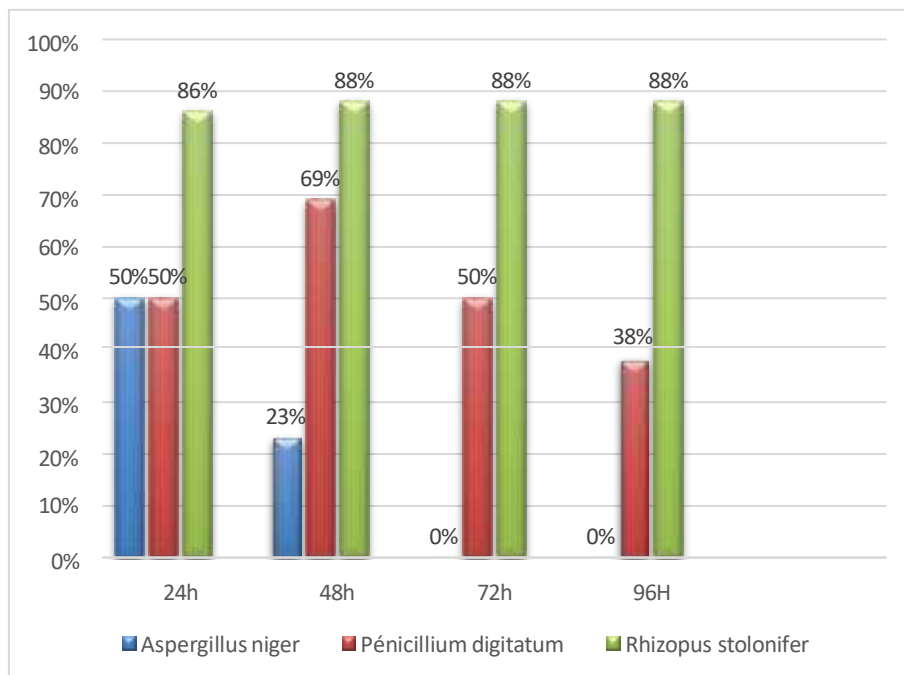


Figure 29: résultats d'effet antifongique de *Kluyveromyces spp* vis à vis *Aspergillus niger* et *Pénicillium digitatum* et *Rhizopus stolonifer*

Les levures killer ont étudiées pour leurs potentielles applications (**Van Vuren et Wingfield, 1986; Boone *et al.*,1990;Chen *et al.*,2000; Ciani et Fatichenti, 2001**) dans les processus de fermentation industrielle, afin de lutter contre les levures indésirables de contamination (**Michalcakova *et al.*,1993**). la lutte contre les maladies fongiques des plantes (**Droby *et al.*,1989 ; Wisniekwski *et al.*,1991 ; McGuire, 1994**)

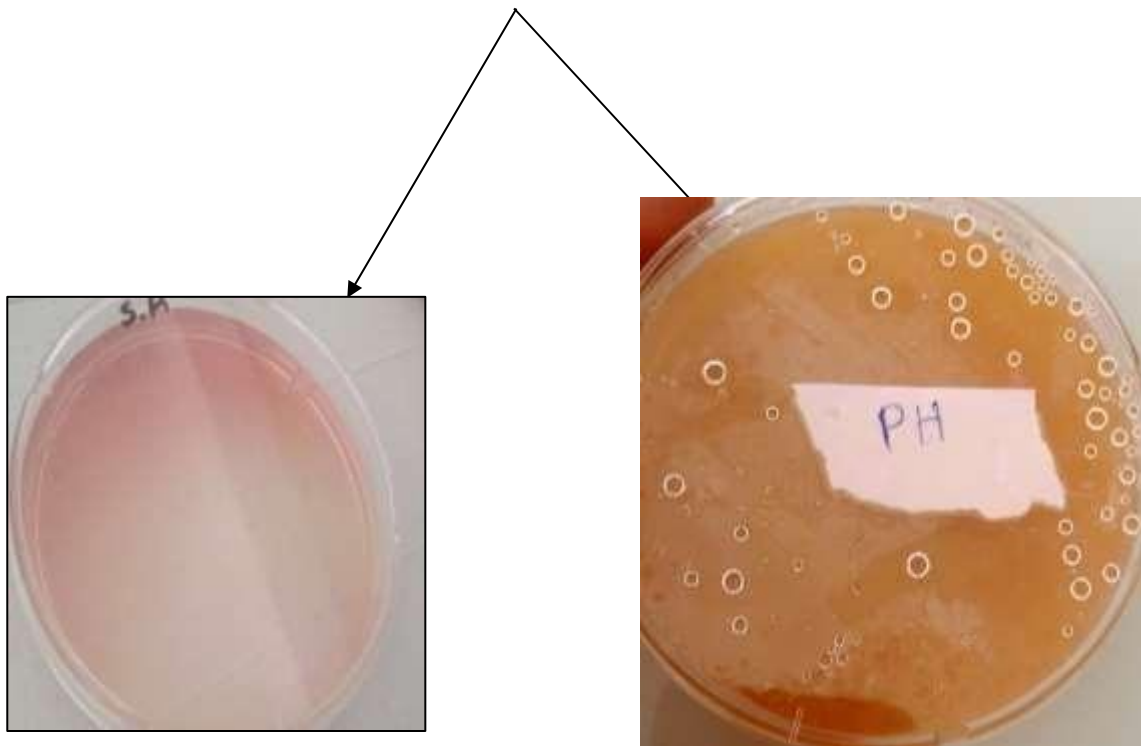
IV.4.2. Résultats de l'étude de l'effet antibactérien

IV.4.2.1. Identification des souches bactériennes

Selon les données du tableau, deux échantillons ont été analysés : de la viande hachée et du poulet haché. Nous avons effectué trois dilutions pour chaque type d'échantillon : la solution mère, D2 et D3. On a constaté la présence de colonies bactériennes sur le milieu Chapman et on a noté leur teinte. En outre, la teinte du milieu de culture a également été enregistrée pour chaque colonie.

Tableau 14: Description des colonies observées sur le milieu Chapman

L'échantillon	Description des colonies	
Viande Hachée	Solution mère	Colonie de couleur blanche crémeuse On note que la couleur de milieu de culture ne change pas
	D2	Colonie de couleur jaune On note que la couleur de milieu de culture change
	D3	Colonie de couleur jaune On note que la couleur de milieu de culture change
Poulet Hachée	Solution mère	Colonie de couleur jaune On note que la couleur de milieu de culture change
	D2	Colonie de couleur blanche crémeuse On note que la couleur de milieu de culture ne change pas
	D3	Colonie de couleur jaune On note que la couleur de milieu de culture change



Changement de la couleur de milieu vers le jaune due à la fermentation de mannitol

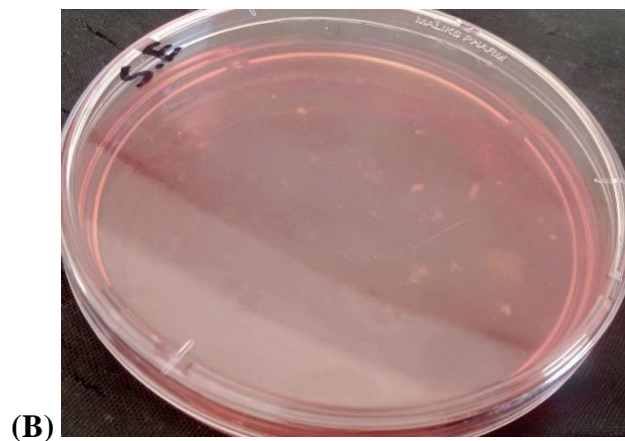


Figure 30: Aspect des bactéries sur le milieu Chapman Après le repiquage (A) *Staphylococcus aureus* (B) *Staphylococcus epidermidis*

Le milieu Chapman est un milieu sélectif employé pour isoler et détecter les staphylocoques, notamment *Staphylococcus aureus*, dans les échantillons alimentaires ou cliniques (jean- Noe joffin ,2006). Les sels biliaires et le cristal violet présents dans ce milieu empêchent la majorité des bactéries de se développer, à l'exception des staphylocoques qui sont tolérants à ces inhibiteurs. La colonie bactérienne de couleur blanche crèmeuse ne modifie pas la couleur du milieu de culture, comme vous l'avez observé. Il semblerait que la bactérie qui forme cette colonie soit sensible aux

inhibiteurs présents dans le milieu Chapman et ne produit pas de métabolites ou d'enzymes capables de modifier le milieu.

D'autre part, la présence d'une colonie bactérienne de couleur jaune entraîne une modification de la couleur du milieu de culture. Cela indique que la colonie bactérienne est capable de métaboliser certains éléments du milieu Chapman, ce qui peut entraîner un changement de pH ou d'autres réactions chimiques dans le milieu, ce qui entraîne un changement de couleur.

La présence de *aureus* peut être signalée par un changement de couleur vers le jaune dans le milieu Chapman, car cette espèce a la capacité de fermenter le mannitol présent dans le milieu, ce qui entraîne la production d'acides qui réduisent le pH et modifient la couleur du milieu (Jean-Noë Joffin, 2006). Cela pourrait indiquer que l'échantillon contient du *Staphylococcus aureus*

IV.4.2.1.1. Sur milieu Mac Conkey

Deux échantillons ont été testés, selon le tableau : de la viande hachée et du poulet haché. Trois dilutions ont été effectuées pour chaque type d'échantillon : la solution mère, D2 et D3. On a observé des colonies bactériennes sur le milieu Mac Conkey et on a noté leur couleur. En outre, on a également pris en compte la morphologie des colonies pour chaque colonie.

Tableau 15: Description des colonies observées sur le milieu Mac conkey

Viande Hachée	Solution Mère	Colonie de couleur jaune avec changement de couleur de milieu de Culture
	D2	Colonie de couleur jaune avec changement de couleur de milieu de Culture
	D3	Colonie de couleur jaune avec changement de couleur de milieu de Culture
Poulet Hachée	Solution Mère	Colonie de couleur jaune avec changement de couleur de milieu de Culture
	D2	Colonie de couleur jaune avec changement de couleur de milieu de Culture
	D3	Colonie de couleur jaune avec changement de couleur de milieu de Culture

L'observation de colonies bactériennes de couleur jaune sur un milieu de MacConkey, accompagnée d'un changement de couleur du milieu de culture, est significative et peut fournir des informations importantes sur les caractéristiques des bactéries présentes dans l'échantillon. Le milieu de Mac Conkey est un milieu de culture sélectif utilisé pour isoler et différencier les entérobactéries, telles que *Escherichia coli*, des autres bactéries présentes dans un échantillon. Ce milieu contient du

lactose comme source de carbone, ainsi que des indicateurs de pH tels que le rouge neutre et le cristal violet. Les bactéries capables de fermenter le lactose produisent des acides qui abaissent le pH du milieu, entraînant un changement de couleur du milieu de rose à jaune (jean- Noe joffin ,2006).

Ainsi, les colonies bactériennes sur le milieu de MacConkey sont jaunes et que le milieu de culture lui-même change de couleur, cela indique que les bactéries présentes sont capables de fermenter le lactose (jean- Noe joffin ,2006). Ce changement de couleur est le résultat de la production d'acides par les bactéries lors de la fermentation du lactose, ce qui abaisse le pH du milieu et provoque le changement de couleur de l'indicateur de pH (jean- Noe joffin ,2006).

La capacité à fermenter le lactose est une caractéristique importante pour différencier les entérobactéries, et l'observation de ce changement de couleur sur le milieu de MacConkey peut suggérer la présence de bactérie telle qu'*Escherichia coli* qui est capable de fermenter le lactose dans l'échantillon (jean- Noe joffin ,2006).



Figure 31: Aspect macroscopique des colonies *E.coli* sur le milieu Mac Conkey

IV.4.2.1.2. Coloration de Gram

L'observation de coques de couleur violette regroupées, caractéristique de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, ainsi que de bacilles colorés en violet, peut être interprétée comme suit :

Staphylococcus aureus et *Staphylococcus epidermidis* sont des bactéries à Gram positif, ce qui signifie qu'elles retiennent le colorant violet de la coloration de Gram. Les coques de ces deux espèces de *Staphylococcus* se présentent souvent en amas ou en grappes caractéristiques, ce qui est une caractéristique morphologique importante pour les distinguer d'autres bactéries.

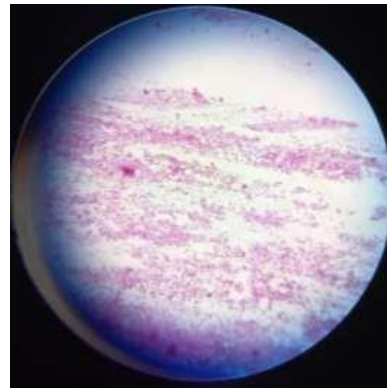
Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (*cocci*) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus* (Sutra,1998).

Escherichia coli, en revanche, est une bactérie à Gram négatif. Normalement, lors de la

coloration de Gram, les bactéries à Gram négatif perdent la coloration violette lors de la décoloration à l'alcool et prennent ensuite la couleur du contre-colorant, généralement rose ou rouge. Cependant, dans certains cas, il peut y avoir des variations dans la coloration, ce qui peut conduire à une rétention du colorant violet par les bactéries à Gram négatif. Cela peut être dû à plusieurs facteurs, notamment à la présence d'une paroi cellulaire plus épaisse ou à des conditions de coloration suboptimales. (Géraldine Williaume et Karl Perron, 2007).



(A)



(B)

Figure 32: Aspect microscopique des colonies des bactéries à Gram positive *Staphylococcus épidermidis* (B) *Staphylococcus Aureus* Gr X 100

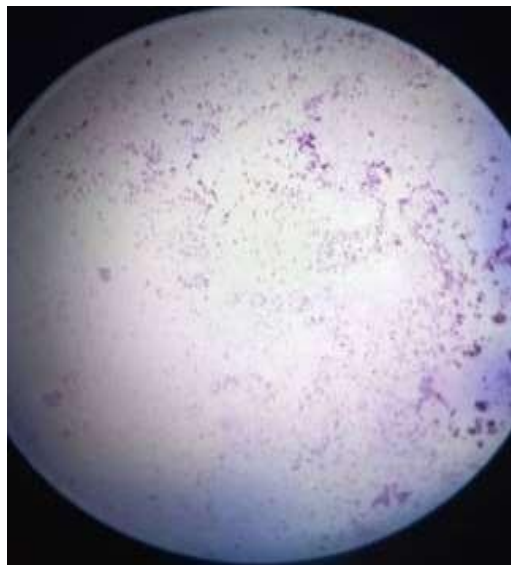


Figure 33: Aspect microscopique des colonies des bactéries à Gram négative *E. coli* Gr X 100

IV.4.2.1.3. Test Catalase

D'après les tests biochimiques nous avons constaté des résultats positives pour le test catalase et coagulase pour les bactérie cibles tableaux 16 et 17

Tableau 16: Résultat de Test de catalase

Bactérie	Résultat de catalase
<i>Staphylococcus aureus</i>	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+
<i>E. Coli</i>	+

IV.4.2.1.4. Test de coagulase

Tableau 17: Résultat de Test de coagulase

Bactérie	Résultat de test coagulase
<i>Staphylococcus aureus</i>	+
<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	+
<i>E. Coli</i>	+

IV.5 Résultats de l'activité antibactérienne

Tableau 18: zone d'inhibition en cm après 72h d'incubation

	<i>Zygosaccharomyces</i> <i>spp</i>	<i>Rhodotorula</i> <i>spp</i>	<i>Kluyveromyces</i> <i>spp</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	50µl :0	50µl :0	50µl :0,5
	75µl :0	75µl :0,6	75µl :0,8
	100µl :0	100µl :1,5	100µl :1,2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50µl :0	50µl :0	50µl :0
	75µl :0	75µl :0	75µl :0
	100µl :0	100µl :0	100µl :0
<i>E. Coli</i>	50µl :0,5	50µl :0	50µl :0
	75µl :0,7	75µl :0	75µl :0
	100µl :4,5	100µl :0	100µl :0

Tableau 19: Résultats de l'activité antibactérienne

	<i>Zygosaccharomyces spp</i>	<i>Rhodotorella spp</i>	<i>Kluyveromyces spp</i>
<i>Staphylococcus Aureus</i>	-	+	+
<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	-	-	-
<i>E. Coli</i>	+	-	-

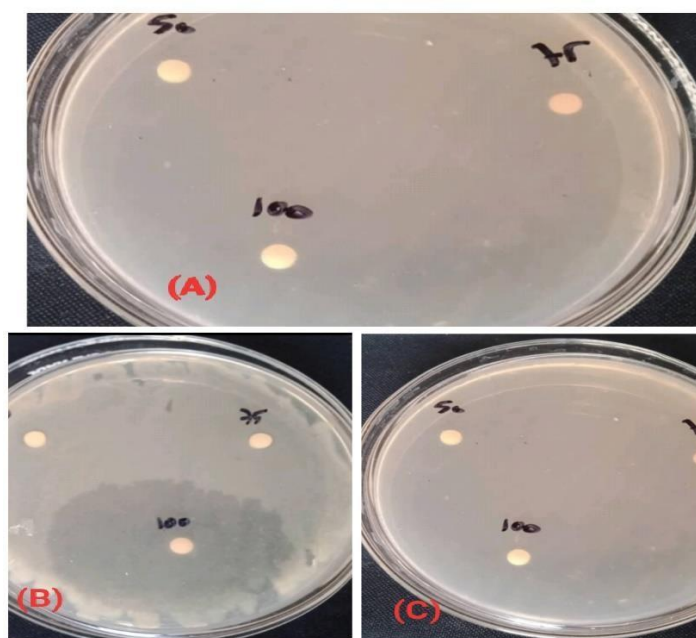


Figure 34 : effet antibactérien de *Zygosaccharomyces spp* (A) vis à vis *Staphylococcus aureus* (B) *E. coli* (C) vis à vis *Staphylococcus épidermidis*

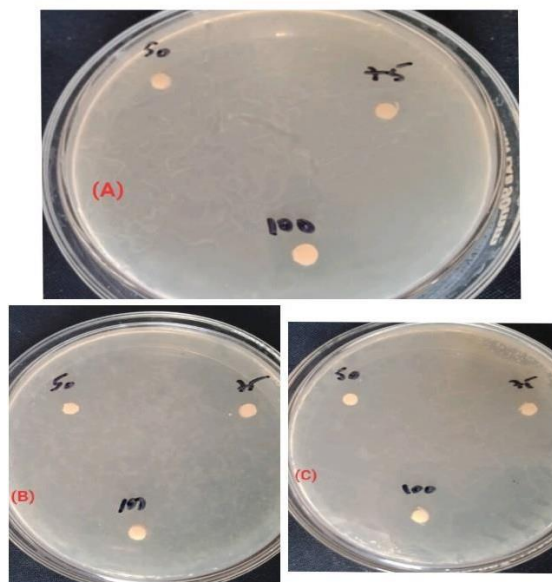


Figure 35 : effet antibactérien de *Rhodotorella* spp (A) vis à vis *Staphylococcus aureus* (B) *E. coli* (C) vis à vis *Staphylococcus epidermidis*

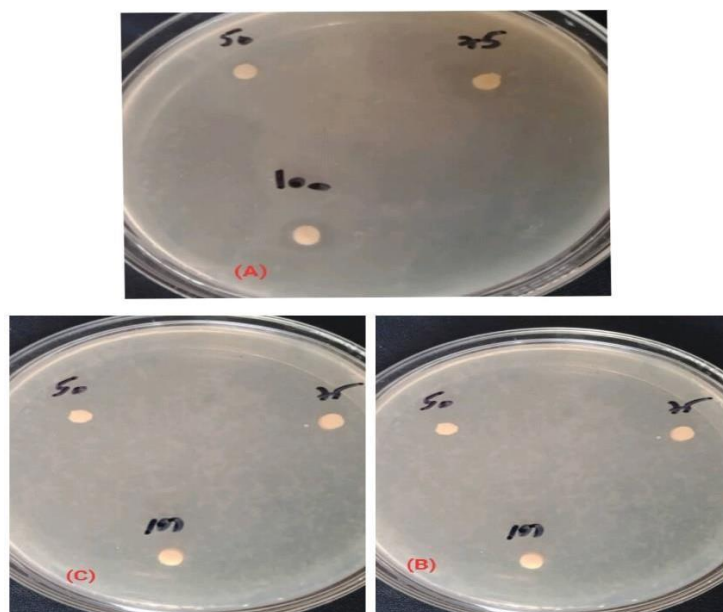


Figure 36 : effet antibactérien de *Kluyveromyces* spp (A) vis à vis *Staphylococcus aureus* (B) *Staphylococcus epidermidis* (C) vis à vis *E. coli*

Dans notre recherche sur l'activité antibactérienne des levures, il semble que *Zygosaccharomyces spp* n'ait pas montré d'effet significatif contre *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus épidermidis*, mais a montré un effet significatif contre *E. coli*.

Cela suggère que *Zygosaccharomyces spp* pourrait avoir des propriétés antibactériennes sélectives, ciblant spécifiquement certaines souches bactériennes plutôt que d'autres. L'absence d'activité contre les souches de *Staphylococcus* peut être due à divers facteurs, tels que la

Résistance naturelle de ces bactéries à l'action des composés produits par *Zygosaccharomyces spp* ou à des mécanismes de défense spécifiques qu'elles possèdent. l'activité inhibitrice des levures devient faible ou peut être perdue : expliquée par la réduction de la biomasse cellulaire ou la production d'enzymes hydrolytiques extracellulaires pouvant causer la dégradation des molécules bioactives (**Lynn Rowbottom et al., 2004**).

L'effet antibactérien de *Rodhotorella spp* semble être spécifique à *Staphylococcus aureus*, mais pas à *Staphylococcus épidermidis* et à *E. coli* . Dans un autre registre, (**Bilinski et al.,1985**), montrent que les toxines killer produits par les levures sont inactives sur la plupart des bactéries à coloration de Gram négative.

Ces résultats met en évidence l'importance de saisir les mécanismes d'action des agents antimicrobiens naturels, comme les levures, et pourrait avoir des répercussions sur la création de nouvelles stratégies pour combattre les infections bactériennes, notamment celles causées par *S. épidermidis*. Néanmoins, des études supplémentaires sont nécessaires afin de mieux appréhender les interactions entre *Rodhotorella spp* et les bactéries.

Cibles, ainsi que pour étudier son potentiel dans des utilisations thérapeutiques ou préventives.

Conclusion

Conclusion

Trois souches différentes sont présentes dans les échantillons de miel et de dattes que nous avons analysés, ce qui suggère une variété microbiologique. Cela laisse entendre que diverses variétés de miels et de dattes peuvent contenir des espèces de levures spécifiques.

La composition des levures a probablement été influencée par les caractéristiques chimiques et environnementales particulières de chaque type de miel et de datte. Il semblerait que le substrat alimentaire puisse jouer un rôle crucial dans la sélection des micro-organismes qui lui sont associés.

L'analyse de l'activité antifongique et antibactérienne revêt une grande importance, dans l'espoir de découvrir des molécules intéressantes. Il est évident qu'il est essentiel d'isoler de nouvelles souches de levures provenant de différents écosystèmes, qui pourraient avoir une activité antifongique efficace. Nous espérons ainsi obtenir des résultats plus efficaces que ceux obtenus.

Étant donné la variété des levures présentes dans les échantillons de miel et de dattes, il est primordial de préserver cette diversité afin de préserver la biodiversité et de préserver les ressources microbiennes potentiellement bénéfiques pour l'avenir.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abdi,L., Ammar,S., et Bentradi, O.(2019).** ETUDE DE L'EFFET ANTIMICROBIEN DE CERTAINES VARIETES DU MIEL. Thèse de doctorat. université ibn khaldoun-tiaret.
- **Al Jasser,M.S (2010).** Effect of storage temperatures on microbial load of some dates palm fruit sold in Saudi Arabia market. African Journal of Food Science, 4(6), 359-363.
- **Ali Haimoud, S. (2017).** Etude Phytochimique Et Rôles Biologiques Des Variétés Des Phoenix Dactylifera (datte) De L'algerie [Thèse de Doctorat, Université Hassiba Ben Bouali - Chlef].
- **Amadou, I. (2016).** « Date Fruits ». In Nutritional Composition of Fruit Cultivars, 215-33.
- **Amira, E., Flamini G., Saafi E.B., Issaoui, M., Zayene, N., Ferchichi, A., Hammami, M., Helal, A. N., et Achour L. (2011).** « Chemical and Aroma Volatile Compositions of Date Palm (Phoenix Dactylifera L.) Fruits at Three Maturation Stages ». Food Chemistry 127 (4): 1744-54.
- **Amouchi, Th., Kali, A. (2019).** Etude microbiologique de quelques miels de la région de Tizi-Ouzou. PhD Thesis. Université Mouloud Mammeri.
- **Aslafi, Abdelhamid, Dellil, A., et Mekki, S. (2018).** Identification des espèces de moisissures potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans la région Tiaret. Thèse de doctorat. université ibn khaldoun-tiaret
- **Atoub, N., Alalta, H. (2021).** Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante du miel de différentes origines botaniques. PhD Thesis. Université jijel.
- **Atriche, R., et Bourekoua, S. (2019).** Valorisation des dattes sèche par la fabrication d'un sirop et leur caractérisation physico-chimiques et microbiologiques. Mémoire de master en agroalimentaire et contrôle de qualité. Université de Djijel 78p.
- **Belaidi, A., Kadri, R. (2020).** Variabilité physico-chimique de miels d'ouest et de sud algérien et leur activité biologique.
- **Belbahi, A. (2015).** Étude et modélisation d'un traitement thermique suivi d'un conditionnement (température, aw et CO₂) pour la maîtrise de la flore fongique d'altération des dattes à humidité intermédiaire. PhD Thesis. Montpellier SupAgro.
- **Benbouabdellah, S., et Ziane, D. (2015).** Prévalence de souches de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru et les produits laitiers artisanaux. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri.
- **Benlamoudi, W. (2016).** Essai de lutte biologique in vitro contre quelques maladies fongiques de la tomate dans la région d'Oued Righ par l'utilisation de souches autochtones de *Trichoderma harzianum* Persoon (1794). Thèse de doctorat. UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA.

Références Bibliographiques

- **Berhanu, S.; Tadesse, D. M.; Jorge, A. (2022).** Physico-chemical properties of Ethiopian Apis mellifera Honey: Review. Journal of Agricultural Science and Food Technology, 8.1: 038-44.
- **Boekhout.T, Robert.V.(2003)** - Yeasts in Food_ Beneficial and Detrimental Aspects (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition)-Woodhead Publishing Ltd .
- **Bogdanov, S. (2011).** The honey book. Bee Product Science.
- **Bogdanov, S., Bieri, K., Gremaud, G., Iff D, Känzig, K., Seiler, H., Stöckli, K. Z. (2004).** Produits apicoles. 23A Miel. Revue par le groupe d'experts "produits apicoles". MSDA.; 1- 37.
- **Bouaziz, D., Bourdjiba, I. (2015).** contribution à l'étude des caractéristique phisico_chimiques et organoléptiques de quelques variétés des dattes Algériennes.
- **Boussaha, S., Yessaad, M. (2022).** Les risques infectieux dans les laboratoires de microbiologie.
- **CHALA, S., CHERGUI, S. 2021.** Etude de l'effet antioxydant du pollen de palmier dattier (phoenix dactylifera L.) et l'extrait des dattes in vivo et in vitro.Mémoire de Master, Université Mohamed Khider de Biskra
- **Chauvin, R. (1987).** La ruche et l'homme. Ed. Calmann-Levy, Paris, p32-33.
- **CHNITI, S., AMRANE, A., HASSOUNA, M., et al. (2013).** Osmoadaptation de la levure xérotolérante *Zygosaccharomyces rouxii* cultivée sur un milieu naturel à base de sirop de dattes. Journée des Doctorants, Ecole Doctorale Sciences De La Matière.
- **Codex Alimentarius. (2001).** Commission Codex standard 12, Revised Codex Standard for Honey, Standards and Standard Methods. FAO- Rome ; 2001. p. 1–7. [http://www. codex alimentarius. net](http://www.codexalimentarius.net)Codex alimentaire (2001).
- Contribution à l'étude de la production de cellulase levurienne par fermentation en milieu solide à base de déchets d'agrumes.
- **Crane, E. (1979).** Honey: A Comprehensive Survey, Heinemann, London. p 608
- **Donadieu, Y. (1978).** Le miel, les thérapeutiques naturelles. 2ème Edition. Edition Maloine. P32
- **Donadieu, Y. (2003).** Qu'est-ce que le miel ? Faculté de médecine, Paris, P 6.
- **Eddine, B. A., et Bouhalit, C. G., Teyssir, F.El I. (2021)** .Contribution à l'étude quantitative et qualitative de la flore fongique du laitde tank dans la région de Guelma.
- **ESCOTT, C., DEL, F., Juan, M., LOIRA, I, et al.(2018).** *Zygosaccharomyces rouxii*: Control strategies and applications in food and winemaking. *Fermentation*, vol. 4, no 3, p. 69.
- **Esteves, Marcos, Lage, Patrícia, Sousa, João, et al. (2023).** Biocontrol potential of wine yeasts against four grape phytopathogenic fungi disclosed by time-course monitoring of inhibitory activities. *Frontiers in microbiology*, vol. 14, p. 1146065.

Références Bibliographiques

- **Fléché, C., Clément, M.-C. Zeggane, S., et Faucon J.-P. (1997).** Contamination des produits de la ruche et risques pour la santé humaine : situation en France. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 16 (2), 609-619
- **Génolevures Consortium; Souciet JL, Dujon B, Gaillardin C, Johnston M, Baret PV, Cliften P, Sherman DJ, Weissenbach J, Westhof E, Wincker P, Jubin C, Poulain J, Barbe V, Ségurens B, Artiguenave F, Anthouard V, Vacherie B, Val ME, Fulton RS, Minx P, Wilson R, Durrens P, Jean G, Marck C, Martin T, Nikolski M, Rolland T, Seret ML, Casarégola S, Despons L, Fairhead C, Fischer G, Lafontaine I, Leh V, Lemaire M, de Montigny J, Neuvéglise C, Thierry A, Blanc-Lenfle I, Bleykasten C, Diffels J, Fritsch E, Frangeul L, Goëffon A, Jauniaux N, Kachouri-Lafond R, Payen C, Potier S, Pribylova L, Ozanne C, Richard GF, Sacerdot C, Straub ML, Talla E. (2009).** Comparative genomics of protoploid *Saccharomycetaceae*. Genome Res. Oct;19(10):1696-709. doi: 10.1101/gr.091546.109. Epub 2009 Jun 12. PMID: 19525356; PMCID: PMC2765284.
- **Gladfelter, AS.(2006).** Nuclear anarchy: asynchronous mitosis in multinucleated fungal hyphae. Curr Opin Microbiol. Dec;9(6):547-52. doi: 10.1016/j.mib.2006.09.002. Epub 2006 Oct 11. PMID: 17045513.
- **Gonnet, M. (1991).** Composition du miel. Edition APIDA. p105.
- **Guiraud, JP., Rosec, JP. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire.ed. AFNOR.;196.
- **Harrak, H., Hamouda, A., et Nadi, M. (2018).** Évaluation et amélioration de la qualité des pâtes traditionnelles de dattes, produits du terroir des oasis. Cahiers Agricultures, 27(1), 15001.
- **Hasnaoui, A., M.A. Elhoumaizi, M.A. Asehrou, A., et Hakkou, A. (2010).** Chemical composition and microbial quality of main varieties of dates grown in figuig oasis of Morocco . Int. J. Agric. Biol., 12: 311–314. ISSN Print: 1560–8530; ISSN Online: 1814–9596
- **Hencke, S.(2000),** Utilisation alimentaire des levures, Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré - Nancy I.
<https://www.bing.com/ck/a?!&&p=ae203987d01e2877JmltdHM9MTcxNiI0OTYwMCZpZ3VpZD0wMDBmMDM1ZS01NTEhLTZlMjYwNS0xNzE3NTRhZTZmZWlmaW5zaWO9NTIyMO&ptn=3&ver=2&hsh=3&fclid=000f035e-551a-6e21-3f05-171754ae6feb&psq=definition+des+levures&u=a1aHR0cHM6Ly93d3cuZnV0dXJhLXNjaWVvY2VzLmNvbS9wbGFuZXRIL2RlZmluaXRpb25zL3pzb2xvZ2llLWxldnVyZS0xMjc3Mi8&ntb=1>

Références Bibliographiques

- **Huchet, E., Coustel, J., Guinot, L. (1996).** Les constituants chimiques du miel, méthodes d'analyses chimiques. Département Sciences de l'aliment; p. 1–5.
- **Jean-Prost, P., et Le Conte, Y. (2005).** Apiculture, connaître l'abeille, Conduire le rucher. 7ème éd Lavoisier, France p 698.
- **Johannes P. Van Dijken, W., Alexander, S. (1986) .** Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts, FEMS Microbiology Reviews, Volume 1, Issue 3- 4, April 1986, Pages 199–224, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1986.tb01194.x>
- **Johnson, E. A. et Echavarri-erasun, C. (2011).** Yeast biotechnology. In
- **Jouve L. J (1996).** La qualité microbiologique des aliments maîtrise et critères, 2eme édition;Ed. Polytechnica, Paris, pp : 186-354.
- **Karlson.G et Erwin, F. (1970).** Mycobacterium bovis nom. Nov, International journal of systematic bacteriology. <https://doi.org/10.1099/00207713-20-3-273>
- **Khechmar, D ., Zaafr, S., et Akroum, S. Encadreur. (2017).** Activité antifongique de quelques huiles végétales sur les champignons responsables de mycoses humaines. . Thèse de doctorat. Université de jijel.
- **Khelifa, L., Arare, C., et Maàche, S. (2019).** Contribution à l'étude de la microflore d'Elklila. Thèse de doctorat. Université laarbi tebessi tebessa.
- **Knop, M.(2011).** Yeast cell morphology and sexual reproduction – A short overview and some considerations, Comptes Rendus Biologies, Volume 334, Issues 8–9, Pages 599-606, ISSN 1631-0691, <https://doi.org/10.1016/j.crv.2011.05.007>.
- **Ksouri, S. M. (2017).** Etude des Champignons d'Intérêt Médicale et Vétérinaires et des Méthodes d'Identification.
- Kurtzman, C. P. "Pichia EC Hansen emend. Kurtzman. (1998). **The yeasts. Elsevier. 273 -352.**
- **Labrani, F. Z. K. (2016).** Activité « Killer » chez des levures isolées des sols du Nord-Est Algérien: Purification, caractérisation et effet sur les souches de levures indésirables. Thèse de Doctorat, Université des frères Mentouri-Constantine 1.
- **Laredj, Hocine. (2017).** Caractérisation microbiologique et physicochimique des miels produits au niveau de la région de Tiaret. Thèse de doctorat. Université Ibn Khaldoun-Tiaret-.
- **Louveaux, J. (1968a).** Composition, propriétés et technologie du miel. In traité de biologie de l'abeille. Tome 3 : les produits de la ruche, Sect l'abeille et la fleur © Ed. Masson et CIE, Paris. P. 277-318
- **Louveaux, J. (1980).** Les abeilles et leur élevage. Edition Hachette. p 325.
- **Marc-André L., William, T. S. (1998).** Chapter 4 - Ecology and yeasts, Editor(s): Cletus P. Kurtzman, Jack W. Fell, The Yeasts (Fourth Edition), Elsevier, Pages 21-30, ISBN

Références Bibliographiques

9780444813121, <https://doi.org/10.1016/B978-044481312-1/50007-1>.

- **Martorell, P., Stratford, M., Steels, H., Fernández-Espinar, MT., Querol, A. (2007).** Physiological characterization of spoilage strains of *Zygosaccharomyces bailii* and *Zygosaccharomyces rouxii* isolated from high sugar environments. *Int J Food Microbiol.* Mar 10;114(2):234-42. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.014. Epub 2007 Jan 18. PMID: 17239464.
- **Messgo-Moumene, S. (2015).** Essais de lutte biologique contre le mildiou de la pomme de terre en Algérie. Thèse de doctorat. ENSA.
- **Misbah, A., Essarioui, A., et Noutfia. (2022).** Détermination de la flore fongique dessalles de bain et des Hammams.Younès. Technologies post- récolte pour la préservation de la qualité des dattes durant le stockage. *African and Mediterranean Agricultural Journal-Al Awamia*, no 134, p. 30-59.
- **Montes de Oca, R., Salem, A. Z. M., Kholif, A. E., Monroy, H., Pérez, L. S., Zamora, J .L., Gutiérrez, A. (2016).** Yeast: Description and Structure. <https://www.researchgate.net/publication/293605511>.
- **Morse, R., et Hooper, T. (1985).**The Illustrated Encyclopedia of Beekeeping. E.P. Dutton, Inc. NY, NY.
- **Nihed, B., EL Houda, A. M. N. (2021).** Effet antibactérien de quelques variétés du miel Algérien. PhD Thesis. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- **Nunes, S.A.B., et Bekkadour, M.N. (2023).** Utilisation thérapeutique du miel entre données scientifiques et connaissances de la population (Tlemcen).PhD Thesis. University Of Tlemcen....
- **Péter, G., Takashima, M., Čadež, N. (2017).** Yeast Habitats: Different but Global. In: Buzzini, P., Lachance, MA., Yurkov, A. (eds) *Yeasts in Natural Ecosystems: Ecology* . Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61575-2_2
- **Phaff H.J., Starmer W.T. (1987).** Yeasts associated with plants, insects and soil. In: Rose A.H., Harrison J.S. (Eds), *The Yeasts. Biology of yeasts* . Academic, London,pp. 123–180.
- **Phale, S. (2018).** **Yeast: Characteristics and Economic Significance. Journal of Bioprocessing & Biotechniques, 8(5), 1-3.**
- **Phale, S.(2018).**Yeast: Characteristics and economic significance. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, vol. 8, no 05, p. 8-10.
- **Philippe, J. M. (2007).** Le guide de l'apiculture
- **Piana, M. L., Poda, G., Cesaroni, D., Cuetti, L., Bucci, M.A., et Gotti P. (1991).** Research on microbial characteristics of honey samples of Udine province. *Riv. Sot. Ital. Sci. Aliment.* 20, 293-301
- Preface, *Yeasts: From Nature to Bioprocesses Mycology: Current andFuture Developments (2022)* 2: i. <https://doi.org/10.2174/9789815051063122020001>

Références Bibliographiques

- **Raounek, Boutabba S., et Abdelbassat, D.** Isolement des champignons filamenteux à partir des plantes et étude de leur activité antagoniste.
- **Ravazzi, G. (2014).** Abeille et apiculture. Edition de Devecchi S.A. Paris. P159.
- **Samakkarn, W., Vandecruys, P., Moreno, M.R.F, et al.** 2024 New biomarkers underlying acetic acid tolerance in the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 108, no 1, p. 153.
- **SHAH, Kshitij Navinprakash; PAWAR, P. A.; WANKHADE, P. R. 2022.** Honey and its properties: A comprehensive review. Volume 7, Issue 1, Page No. 16-20
- **Siboukeur, A. (2011).** Etude de l'activité antibactérienne des bactériocines (type nisine) produites par *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, isolée à partir du lait camelin. Thèse de doctorat.
- **Snowdon, J.A., Cliver D.O. (1996)** - Microorganisms in honey. *Int. J. Food Microbiol.* 31: 1- 26
- **Speers, A., Forbes, J. (2015).** Yeast. The International Centre for Brewing and Distilling, Heriot-Watt University, Edinburgh, Scotland, UK; Dalhousie University, Halifax, NS, Canada.
- **Tafere, D. A. (2021).** Chemical composition and uses of Honey: A Review. *Journal of Food Science and Nutrition Research*, 4.3: 194-201.
- **Tysset, C. et Rousseau, M (1981).** Le problème du microbisme et de l'hygiène des miels du commerce, *Rev. Med. vet.* 132, 591-600.
- **Ward, WH., et Truman, KF., (2001).** A quality survey of Australian Honeys. Ed : RIRDC. P 41
- **Zikrina, M. (2023).** PENGARUH LAMA FERMENTASI, KONSENTRASI GULA DAN INOKULUM TERHADAP PERTUMBUHAN *Saccharomyces boulardii* PADA MEDIA FERMENTASI PULPA KAKAO. <https://www.laboratoire-lescuyer.com/nos-actifs/saccharomyces-boulardii>

Annexe

Annexe

Préparation du milieu YCB (Yeast Carbone Base)

Glucose.....20g

KH₂PO₄..... 1g

Mg SO₄ (7 H₂O) 0,5g

Agar..... 20g

Eau distillée1000ml

L'autoclavage se fait à 120 C° pendant 15 mn.

Préparation du milieu Viande de foie (VF)

Base viande de foie 10 g

Peptone20 g

Extrait de levure..... 10 g

Glucose.....5 g

Agar- Agar 15 g

Eau distillée 1000 ml

pH 7,4 ± 0,2.

Autoclaver à 120C° pendant 15mn, solidifier en position inclinée.

Composition de milieu Sabouraud

Peptone chapoteaut..... 10g

Glucose massé20g

Agar..... 15g

Eau distillée 1000ml

pH :6 - 6,3

Stérilisation 15 minutes à120°C

La composition du milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

Extrait de pomme de terre 200 g

Glucose..... 20g

Agar..... 15g

Eau distillée 1000ml.

Stériliser à 120C°pendant 15 mn.

Composition de milieu OGA (gélose oxytétracycline glucose)

Extrait de levure	5g
Glucose	20g
Gélose	16g
Eau distillée	1000g

Autoclavage à 120°C pendant 15 minutes

Préparation du milieu YNB (Yeast Nitrogène base).

SO ₄ NH ₄	2,5g
KH ₂ PO ₄	0,5g
Mg SO ₄ (7 H ₂ O)	0,5g
Agar	10g
Eau distillée	500ml

L'autoclavage se fait à 120 C° pendant 15 mn.

Composition de milieu gélose MacConkey

Peptone pancréatique de gélatine	17g
Peptone pancréatique de caséine	1,5g
Peptone pancréatique de viande	1,5g
Lactose	10g
Chlorure de sodium	5g
Sels biliaires	1,5mg
Rouge neutre	30mg
Violet de gentiane	1mg
Agar	13,5
Eau distillée	1000ml

Ajuster le pH à 7,1 à 25