

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالة

Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie
Spécialité/Option : production et transformation laitière
Département : Ecologie et Génie de l'environnement

Thème

Impact toxicologique d'un additif alimentaire sur la levure
« *Saccharomyces cerevisiae* »

Présenté par :

- Amrani chaima
- Grairia Amira
- Haddouche amani

Devant la commission composée de :

Dr. Ydjedd S.	Présidente	Université 8 Mai 1945 Guelma
Dr. Drif F.	Examinatrice	Université 8 Mai 1945 Guelma
Dr. Benosmane S.	Encadrante	Université 8 Mai 1945 Guelma

Juin 2022

Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté et la patience pour achever ce modeste travail.

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Mme Benosmane Sana**, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

Nos remerciements s'adressent à tous nos professeurs pour leur générosité et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

*Nos remerciements vont également aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail, **Mme YDJED S** ; et **Mme DRIF F**.*

Enfin, merci à tous ceux qui ont rendu possible ce travail, et même s'ils ne retrouvent pas dans cette petite liste.

Merci encore une fois

Dédicace

Je dédie ce projet :

A ma chère mère, Razika

A mon cher père, Athmen

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mon seul frère, Saif Eddine

A mes chères sœurs Soumia, Amel, Wafa, Hanna

Et ses maris Lazhar, Adel

Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mon cher neveu Yazan Yail

Qui a ajouté de la joie à mon cœur cette année

A ma chère grand-mère Mama Malika

Qui je souhaite une bonne santé et long vie

A mes chères binômes Amira et Amani

Pour ses ententes et ses sympathies

A mon bras droit cher oncle Fayçal

Pour son indéfectible soutien, son patience infinie et son aide

A mes chères amies Djafri Zineb, Aicha hadji, Rawiya nour, aicha mezhoud, Rania hacini.

A tous ceux qui ont cru en moi et mes capacités et qui y croient encore



Dédicace

Je dédie ce projet :

A ma chère mère, AKILA

A mon cher père, RACHID

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes chères sœurs AMANI , AMEL

Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mon petit chat Gucci

A mes chères amis KHALIDA , INES, NADA, RAYAN, AHLEM ,MANAL, ALLA .

A mes cousins CHOUAIB et MADANI.

A tous ceux qui ont cru en moi et mes capacités et qui y croient encore



Dédicace

Je dédie ce projet :

A ma chère mère.

A mon cher père.

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes freres , AHMED, YANIS , MONCEF

Et à LA femme de mon frère LOUDJAINA

Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mes chères nièces, AYLÀ, ALINE

A tous ceux qui ont cru en moi et mes capacités et qui y croient encore

Résumé :

La pectine est un additif alimentaire et une substance organique exclusivement produite par certains végétaux de type fruits et légumes. C'est ainsi qu'on la retrouve tout naturellement dans l'agroalimentaire, en qualité de texturant alimentaire. Elle figure dans la liste de nombreux produits sous le code E440.

Cet additif alimentaire fait naturellement partie de l'alimentation humaine, mais ne contribue pas de manière significative à la nutrition. L'apport quotidien en pectine des fruits et légumes peut être estimé à environ 5 g, si environ 500 g de fruits et légumes sont consommés par jour.

La pectine est principalement utilisée comme gélifiant, épaississant et stabilisant dans les aliments. L'application classique donne la consistance gélatineuse aux confitures ou marmelades, qui autrement seraient des jus sucrés.

Nous avons évalué l'effet de la pectine sur un modèle levurien (*Saccharomyces cerevisiae*), qui constitue un excellent microorganisme pour les études biologique (biologie cellulaire et moléculaire), et parmi les modèles de base en expérimentation toxicologique.

Le métabolisme et stress oxydant ont été évalués par le suivi de la croissance, le taux de protéines totales et d'un bio-marqueur du stress oxydatif.

Les résultats ont indiqué qu'il y'avait des perturbations sur la croissance cellulaire de la levure exposée à des concentrations croissantes de la pectine (3.25 , 3.4 , 3.5 , 3.75 g/l). Ainsi que des perturbations remarquables dans le métabolisme des macromolécules (les protéines) et de la Catalase qui est un des bio-marqueurs enzymatique, ceci indique clairement le déclenchement du système antioxydant.

Mots clés : *Saccharomyces cerevisiae*, la pectine, E440, stress, bio-marqueurs, macromolécules.

Abstract:

Pectin is a food additive and an organic substance produced exclusively by certain plants such as fruits and vegetables. It is thus naturally found in the food industry, as a food texturizer. It appears in the list of many products under the code E440.

This food additive is a natural part of the human diet, but does not contribute significantly to nutrition. The daily intake of pectin from fruits and vegetables can be estimated at about 5 g, if about 500 g of fruits and vegetables are consumed per day..

Pectin is mainly used as a gelling, thickening and stabilizing agent in foods. The classical application gives the gelatinous consistency to jams or marmalades, which would otherwise be sweet juices.

We evaluated the effect of pectin on a yeast model (*Saccharomyces cerevisiae*), which is an excellent microorganism for biological studies (cell and molecular biology), and among the basic models in toxicological experiments.

Metabolism and oxidative stress were assessed by monitoring growth, total protein levels and oxidative stress biomarker.

The results indicated that there were disturbances in the cell growth of yeast exposed to increasing concentrations of pectin (3.25, 3.4, 3.5, 3.75 g/l). As well as remarkable disturbances in the metabolism of macromolecules (proteins) and Catalase which is one of the enzymatic biomarkers, this clearly indicates the triggering of the antioxidant system.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, pectin, E440, biomarkers, macromolecules

ملخص:

البكتين هو عبارة عن مادة عضوية مضافة للأغذية تنتجها نباتات معينة كالفواكه والخضروات. حيث يتواجد على شكله الطبيعي في صناعة المواد الغذائية، كنسيج غذائي. وهو مدرج في قائمة العديد من المنتجات تحت الرمز E440 .

هذا المضاف الغذائي هو جزء طبيعي من النظام الغذائي البشري، ولكنه لا يساهم بشكل كبير في التغذية. يمكن تقدير كمية البكتين اليومية من الفواكه والخضروات بحوالي 5 جم إذا تم استهلاك حوالي 500 غ من الفواكه والخضروات يوميا.

يستخدم البكتين بشكل رئيسي كعامل تبلور ومثخن ومثبت في الطعام. يعطي التطبيق الكلاسيكي الاتساق الجيلاتيني للمربي أو مربى البرتقال، والتي ستكون عصائر حلوة.

قمنا بتقييم تأثير البكتين على نموذج من الخميرة (*Saccharomyces cerevisiae*) ، وهو كائن حي دقيق ممتاز للدراسات البيولوجية (البيولوجيا الخلوية والجزيئية) ، ومن بين النماذج الأساسية في التجارب السمية.

تم تقييم الأيض التأكسدي والإجهاد من خلال مراقبة النمو ومستويات البروتين الكلية وعلامة حيوية للإجهاد التأكسدي .

أشارت النتائج إلى وجود اضطرابات في نمو خلايا الخميرة، معرضة لزيادة تركيزات البكتين (3.25، 3.4، 3.5 ، 3.75 غ / لتر). بالإضافة إلى الاضطرابات الملحوظة في عملية التمثيل الغذائي للجزيئات الكبيرة (البروتينات)، والكاتالاز الذي يعد أحد المؤشرات الحيوية الأنزيمية، فإن هذا يشير بوضوح إلى تحفيز نظام مضادات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Saccharomyces cerevisiae* ، البكتين ، E440 ، الإجهاد ، المؤشرات الحيوية ،

الجزيئات الكبيرة.

Table des matières

Remercîment	I
Dédicaces	II
Résumé.....	V
Abstract	VI
ملخص.....	VII
Listes des figures.....	XI
Liste Des Tableaux.....	XII
Introduction générale	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
1. Historique de la levure	4
2. Généralité sur les levures	4
3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4
3.1. Définition	4
3.2. Identification	5
3.2.1. Taxonomie	5
3.2.2. Morphologie	5
3.2.3. Structure	6
3.3. Origine des différentes souches de la levure	7
3.4. Métabolisme	7
3.4.1. Pour le milieu aérobie	7
3.4.2. Pour le milieu anaérobie	7
3.5. Reproduction	8
3.5.1. Cycle de vie	8
3.5.2. Phases de croissance cellulaire	11
3.6. Conditions de culture de la <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11

3.6.1. Des besoins nutritionnels	11
3.6.2. Besoins physico-chimiques	13
3.7. Principales applications de <i>S.cerevisiae</i>	144
4. Les additifs alimentaires	Erreur ! Signet non défini.
4.1 Généralité sur les additifs alimentaires	Erreur ! Signet non défini.
4.2 Classification des additifs alimentaires	Erreur ! Signet non défini.
4.3. Les émulsifiants.....	17
4.3.1. Caractéristiques et fonctionnalités des émulsifiant	17
5. La pectine	18
5.1 La structure de la pectine	19
5.2 Principale source de pectine	Erreur ! Signet non défini.
5.3 Extraction de la pectine	20
5.4 Propriétés physico-chimiques	21
5.5 Utilisations des pectines	24
6. Généralité sur la toxicité	25

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1. Objectifs du travail.....	27
2. Matériels biologique	27
3. Mode expérimental	28
4. Préparation de la culture de levure	28
4.1 Lavage de levure	28
4.2 Protocole de lavage	28
4.3 La mise en culture	29
4.4. Traitement.....	29
5. les paramètres à étudier	30
5_1 cinétique de croissance cellulaire	30
5-2 dosages des protéines totales	31
5.2.1. Principe de la méthode	31
5.2.2 Technique de dosage des protéines	31
5-3_ Mesure de l'activité Catalase (CAT).....	31

CHAPITRE III: Résultats

1_ Effet de la pectine sur la croissance des levures	35
2_ Effet de la pectine sur le taux des protéines totales des levures	36
3_ Effet de la pectine sur l'activité du Catalase des levures	37

Chapitre IV : Discussion et conclusion

Discussion	39
1) Quel sont les effets de la pectine sur la croissance cellulaires ?	40
2) Quel sont les effets de la pectine sur le métabolisme des protéines ?	41
3) Quel sont les effets de la pectine sur les bio- marqueurs enzymatiques (la catalase) ?	42
Conclusion.....	44
Référence Bibliographique.....	47

Listes des figures

Figure 1 : Micrographie de <i>S. cerevisiae</i>	5
Figure 2: Structure de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6
Figure 3: Bourgeonnement de <i>S. cerevisiae</i>	9
Figure 4: le cycle biologique de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , (b) Changement de type d'accouplement dans les haploïdes. Commutation des cellules mères en G1	10
Figure 5; pectine sous forme de poudre.....	19
Figure 6: Molécule de la pectine.....	19
Figure 7 : Zone de jonction des pectines HM lors de la gélification	23
Figure 8 : Mécanisme de gélification de la pectine LM	24
Figure 9: Micrographie de <i>S. cerevisiae</i>	27
Figure 10 : explication du protocole de la cinétique de croissance. . Erreur ! Signet non défini.	0
Figure 11 : protocole expérimentale du dosage des protéines	31
Figure 12: Effet de la pectine sur les variations de la croissance des <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	355
Figure 13: Effet de la pectine sur les variations des protéines totales chez <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	366
Figure 14: Effet de la pectine sur les variations de la Catalase chez <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	377

Liste Des Tableaux

Tableau 1: Les principales applications de <i>S. cerevisiae</i>	14
Tableau 2 : Codes des grandes familles d'additifs	16
Tableau 3: Principales sources de pectines d'intérêt industriel	200

Introduction générale

Introduction générale :

L'alimentation est essentielle à la vie. Son rôle principal est de nourrir le corps. De ce fait elle a une grande importance pour la santé.

Nos choix d'aliment dépendent de plusieurs facteurs : la culture, le milieu social, le revenu, la disponibilité des aliments et les goûts personnels. L'alimentation est donc un sujet qui touche plusieurs aspects de la vie.

Depuis l'existence de l'homme sur terre, il se bat pour sa survie et sa continuité grâce à l'alimentation parce que « nous sommes ce que nous mangeons », et comme nous le savons la composition de notre corps dépend en grande partie de ce que nous avons consommé.

Selon notre type alimentaire actuel nous trouvons que l'alimentation a une grande histoire ce qui montre que l'alimentation est l'aboutissement d'une longue évolution qui s'est effectuée parallèlement à l'évolution technique, économique, sociale et physiologique des peuples, depuis la première époque de l'humanité où l'homme dépendait d'aliments prêts car il ne savait tout simplement produire ses aliments, jusqu'à la découverte de machines (Dupin *et al.*, 1992) et lorsque le niveau de vie a augmenté et que les consommateurs ont exigé plus de diversité dans le choix des denrées alimentaires, la découverte de l'industrie agroalimentaire qui s'appuie sur des savoir-faire et des technologies de plus en plus sophistiqués ou les additifs alimentaires jouent un rôle souvent important. (Brigand *et al.*, 1998)

Ce sont des substances n'ayant pas de valeur nutritive, ajoutées intentionnellement aux aliments le plus souvent en faible quantité pour en améliorer l'apparence, la saveur, la consistance ou la conservation. (Comité Mixte FOA/OMS., 1990)

Aujourd'hui, la présence des additifs alimentaires est devenue une réalité avec laquelle les consommateurs doivent vivre. En effet, l'utilisation des additifs ne date pas d'hier. Elle remonte en fait à plusieurs siècles. Au fur et à mesure des progrès de la science, l'éventail s'élargit dans un premier temps puis se restreint avec l'avènement des études toxicologiques. À l'heure actuelle, des normes d'utilisation rigoureuses édictées par les instances nationales et internationales sont là pour protéger le consommateur ; une classification définit également le rôle spécifique de chaque additif alimentaire.

Il faut toutefois se méfier de certaines campagnes médiatiques qui utilisent les données scientifiques pour entretenir une psychose envers les additifs alimentaires qui n'est pas toujours justifiée. (Clemens, 1998)

Les substances chimiques font partie de notre vie quotidienne, Toute matière vivante ou inanimée est composée de substances chimiques et la fabrication de la quasi-totalité des produits implique l'utilisation de substances chimiques.

Les micro-organismes participent au développement de la biotechnologie, il s'avère donc indispensable d'avoir une idée sur les différents types de micro-organisme qui existent, leur influence sur le développement de la biotechnologie, leur utilité et leurs limites C'est avec la production d'aliments fermentés que l'utilisation empirique de micro-organismes pour la conservation des aliments annonce la naissance des biotechnologies dès l'énéolithique. [1]

La première partie de ce mémoire consacré à une étude bibliographique et un revenu général de la littérature.

Nous avons donné une idée générale sur notre échantillon « la levure » et ses caractéristiques, métabolisme, cycle biologique, et les conditions de culture.

Ainsi qu'un revue sur les additifs alimentaires et plus particulièrement celui choisi pour notre travail de recherche, « la pectine », ses utilisations, caractéristiques, mode d'action et toxicité et a partir de ces données, nous avons pu mettre au point, une stratégie pour mener nos séries d'expérimentation.

La deuxième partie comprend une étude expérimentale et les résultats obtenus.

Nous avons clôturés notre travail par une discussion suivie d'une conclusion et enfin nous avons proposé quelques perspectives.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

1. Historique de la levure :

Les levures sont les premiers microorganismes à avoir été utilisés par l'Homme. Ainsi, les sumériens, les babyloniens et les égyptiens ont laissé des traces iconographiques et/ou écrites, qui sont vieilles de plusieurs milliers d'années, de la production de boissons alcoolisées par fermentation et de l'utilisation des levures dans la fabrication du pain. Elles sont également les premiers microorganismes à avoir été observés au microscope par Van Leeuwenhoek qui les a dessinées vers 1680 et qui a même réalisé des modèles tridimensionnels en cire. Au dix-neuvième siècle, c'est à la suite de ses travaux sur les levures que Pasteur contribua à la fondation de la microbiologie. Les levures furent reconnues comme des champignons par **Bary** en **1866** lorsqu'il détecta des ascospores chez la levure de bière. Aujourd'hui les recherches portent sur l'amélioration des techniques de fermentation, la sélection des souches microbiennes et la découverte et l'exploitation de nouvelles voies biochimiques. (**Aggoune et Zerkane, 2016**).

2. Généralité sur les levures :

Les levures sont des micro-organismes eucaryotes, non photosynthétiques, chimio-hétérotrophes, champignons à thalle unicellulaire immobiles, le thalle de la levure est l'appareil végétatif le plus simple, sans racine ni tige, sans rameau feuillu et non chlorophyllien, la levure fut à l'origine du développement de la biochimie avec notamment les travaux de Buchner. À l'heure actuelle, les levures constituent un matériel expérimental de choix en raison de leur double état de micro-organismes et d'eucaryotes (**Pol, 1996**).

3. *Saccharomyces cerevisiae* :

3.1. Définition :

Saccharomyces cerevisiae vient du mot saccharose qui signifie «sucre», myces « champignon », tandis que *cerevisiae* fait référence à «cervoise», c'est un terme scientifique, nom qu'on donnait autrefois à la bière, c'est un terme utilisé pour désigner le petit champignon microscopique qui compose les différentes sortes de levures qu'on utilise pour la fermentation. Elle est littéralement connue comme levure du sucre (**Larpent et Gourgoud, 1985**) fut appelé *Saccharomyces cerevisiae* par Meyen en 1837 (**Thuriaux, 2004**). La levure est utilisée depuis des siècles pour la transformation du sucre en alcool, pour l'élaboration de pain, de vin, de bière

3.2. Identification :

3.2.1. Taxonomie :

La place de la levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae* dans la classification de levure est comme suite (**Kreger, 1984**) :

Règne : champignons

Embranchement: fungi

Sous embranchement : Eumycètes

Classe: Ascomycètes

Sous Classe: Héli-ascomycètes

Ordre: Endomycétales

Famille: *saccharomycetaceae*

Sous famille: *saccharomycetoideae*

Genre: *Saccharomyces*

Espèce: *Saccharomyces cerevisiae*.

3.2.2. Morphologie :

Saccharomyces cerevisiae est une cellule sphérique, ovoïde ou arrondies de taille très variable soit de 3 à 14µm (**Figure 1**). Mais certaines cellules sont cylindriques et de grandes tailles jusqu'à 20 µm de longueur ou plus (**Larpent, 1991**).



Figure 1 : Micrographie de *S. cerevisiae* (**Bernstein et Bernstein, 2019**).

3.2.3. Structure :

Elle est présentée dans la figure 2.

➤ **Paroi cellulaire :**

Elle est rigide et très résistante comportant trois couches dont la composition chimique est différente de celle des végétaux supérieurs et des bactéries. La couche externe est formée de mannanes phosphorylés et de glycoprotéines tandis que les couches moyenne et interne sont formées de glucanes. On trouve également dans la paroi des lipides et de la chitine (**Larpent, 1991 ; Larpent-Gourgaud, 1997; Ferreira et Fennesy, 1997**).

➤ **Noyau :**

Il est généralement en position centrale avec un diamètre d'environ 2 μm chez les cellules haploïdes. Le nombre haploïde de chromosomes est égal à seize chez *Saccharomyces cerevisiae* (**Guiraud, 1998**).

➤ **Cytoplasme :**

Il contient des vacuoles en nombre variable qui fusionnent le plus souvent chez les cellules âgées. On trouve également dans le cytoplasme des inclusions de glycogène et des microvésicules (**Guinet et Godon, 1994; Bourgeois et Larpent, 1996; Guiraud, 1998**) ; Lorsque les levures vivent en aérobiose, on trouve dans le cytoplasme des mitochondries qui disparaissent en anaérobiose (**Guinet et Godon, 1994; Bellam et Fould, 1996**).

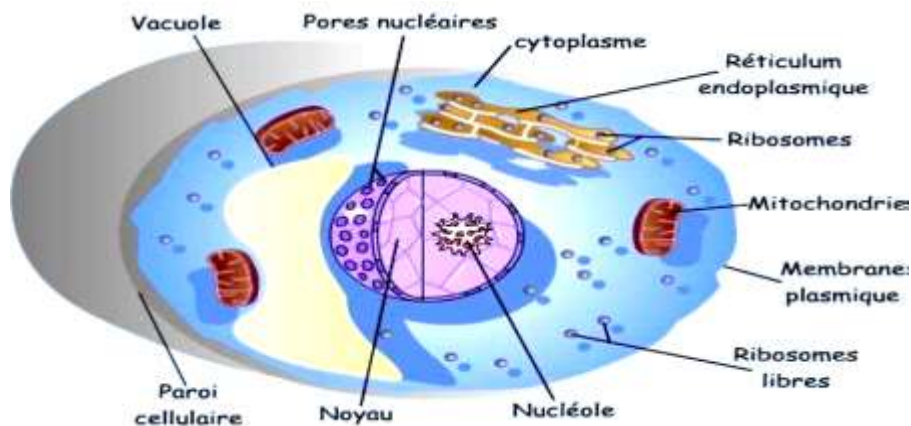


Figure 2: Structure de *Saccharomyces cerevisiae* (Thuriaux, 2004).

3.3. Origine des différentes souches de la levure :

Les souches de l'espèce *S.cerevisiae* peuvent être isolées depuis plusieurs origines, telles que le sol, les fruits (raisins), la sève des arbres, etc., et présentent des propriétés physiologiques différentes (**Barbara et al., 2012**). Cette diversité indique leur capacité d'adaptation dans les conditions différentes de l'environnement. Ces différences sont basées sur une large variation génétique qui est corrélée avec l'origine géographique et les sources d'isolement (**Jespersen et al., 2003 ; Fay et Benavides, 2005 ; Townsend et al., 2006**).

3.4. Métabolisme :

Selon Thanh (**2016**), *Saccharomyces cerevisiae* est capable de vivre dans deux milieux différents : le milieu aérobie et le milieu anaérobie.

3.4.1. Pour le milieu aérobie :

La levure utilise l'oxygène pour que les glucides soient métabolisés en dioxyde de carbone, en eau et une grande quantité d'énergie. C'est le processus métabolique de la respiration. Dans ce milieu l'oxydation du glucose est complète (**Guinet et Godon, 1994**).

D'après plusieurs auteurs comme (**Scriban, 1988 ; Guinet et Godon, 1994 ; Hesclot et Vladescu, 1994 ; Ferreira, 1997 et Guiraud, 1998**) la réaction est la suivante :

Glucose + Oxygène -----> Gaz carbonique + Eau + Energie.

Il se forme donc 13 fois plus d'ATP que par métabolisme anaérobie (**Vladescu,1994 ; Bellam et Fould, 1996 et Ferreira, 1997**).

En 2016, **Aggoune et Zerkane** mentionnent que la levure entre en croissance et se multiplie car elle peut synthétiser de la matière organique et elle assure son maintien en vie.

3.4.2. Pour le milieu anaérobie :

En absence d'oxygène, la levure utilise des sucres pour produire l'énergie nécessaire à son maintien en vie. Pasteur définit ce processus métabolique comme étant celui de la

fermentation. Les sucres sont transformés en gaz carbonique et en alcool (**Leyral et Vierlin, 2007**). Selon **Scriban (1988)**, **Guinet et Godon (1994)**, **Hesclot et Vladescu (1994)** ; **Ferreira (1997)** et **Guiraud (1998)**, la réaction est la suivante :

Glucose ----> Gaz carbonique + Alcool + Energie.

Regnault en 1990 a déclaré que l'oxydation du glucose est incomplète on parle de fermentation ou de vie sans air.

Cependant l'alcool formé contient encore beaucoup d'énergie, donc la libération de l'énergie présente dans le glucose est limitée, ainsi, qu'elle est 20 fois moins par rapport à la respiration. Elle assure un minimum vital à la levure, sans lui permettre de se multiplier rapidement (**Guinet et Godon, 1994**).

3.5. Reproduction :

3.5.1. Cycle de vie :

Concernant les levures, et plus particulièrement *S. cerevisiae*, le cycle de vie est décrit comme haplo-diplobiontique : ce terme illustre le fait que cet organisme est capable de croître à la fois à l'état haploïde et à l'état diploïde. Le passage de l'état haploïde à diploïde se fait par conjugaison ; à l'inverse, la méiose permet de passer de deux copies de chaque chromosome à une copie unique (**Mell et Burgess, 2003**) .

Selon **Lekikot et Malki (2016)**, le cycle cellulaire de *S. cerevisiae* comprend deux modes de reproduction différents :

a) Reproduction asexuée (végétative) :

Le bourgeonnement représente le mode de reproduction asexuée chez la levure *S. cerevisiae* (**Guiraud et Galzy, 1980**) (**Figure 03**).

C'est un processus par lequel une cellule donne naissance à une autre cellule essentiellement identique (**Herskowitz, 1988**).

D'après **Guiraud et Galzy (1980)**, le cytoplasme de la cellule fille reste réuni au cytoplasme de la levure mère pendant la formation du bourgeon, le noyau de celui-ci grossit et se déplace vers le bourgeon. La membrane nucléaire étrangle le noyau de telle manière que la moitié de celui-ci demeure dans la cellule-mère et l'autre passe dans la cellule fille, tandis que la membrane cellulaire se referme autour de chaque noyau en donnant ainsi deux levures semblables.



Figure 3: Bourgeonnement de *S. cerevisiae* (**Kreger-van et Rij, 1984**).

b) Reproduction sexuée :

La reproduction sexuée s'effectue par conjugaison des deux cellules qui donnent naissance à un zygote, ce dernier subit une méiose ou les quatre noyaux haploïdes forment quatre ascospores donnant plus tard des cellules haploïdes (**Figure 4**), (**Bouix et Leveau, 1993**).

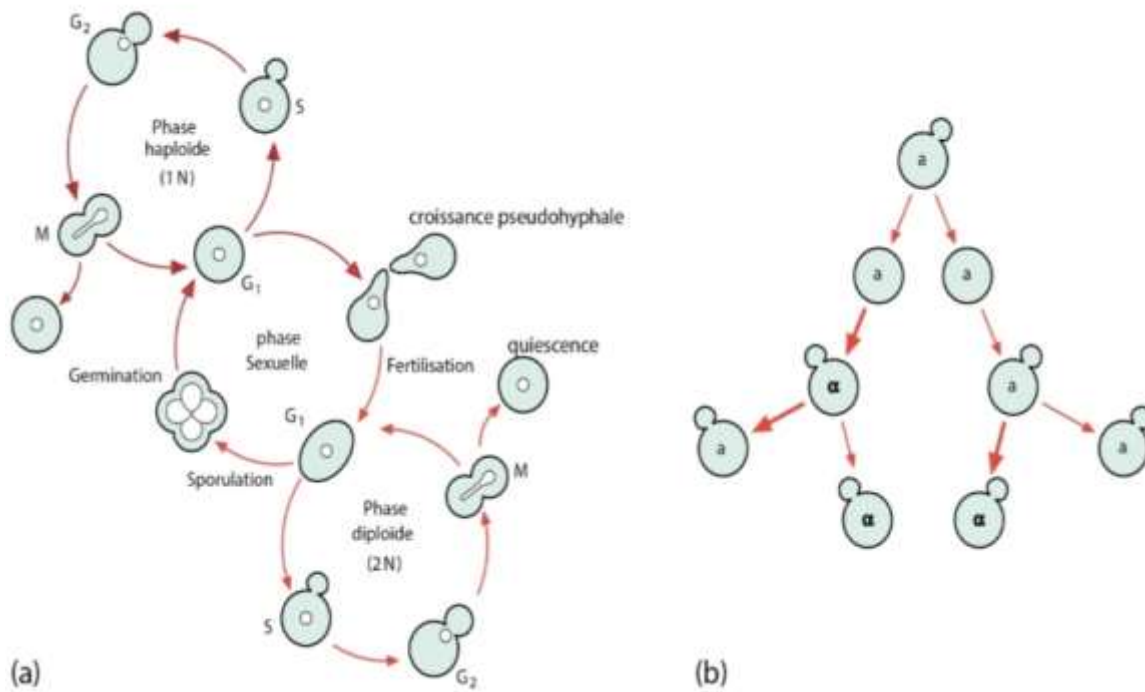


Figure 4: (a) le cycle biologique de *Saccharomyces cerevisiae*, (b) Changement de type d'accouplement dans les haploïdes. Commutation des cellules mères en G₁

(Mell et Burgess, 2003).

Selon Mell et Burgess (2003) à l'état naturel, la levure présente une croissance végétative et vit préférentiellement sous la forme diploïde. Cela lui permet de s'adapter à des changements de milieu et ainsi de mieux résister aux divers stresses qui endommagent l'ADN.

Avoir deux copies de chaque gène lui permet une meilleure résistance. Dans des conditions de stress extrêmes, elle peut aussi s'orienter vers un état de quiescence ou encore vers une croissance pseudohyphale qui lui permet d'explorer le milieu à la recherche de nutriments. Enfin, pour se protéger des agressions extérieures, elle peut sporuler. Suite à cette dernière possibilité, dans des conditions redevenues normales, la levure peut se diviser sous une forme haploïde ou encore se conjuguer à une levure de type sexuel opposé afin de revenir vers une forme diploïde.

3.5.2. Phases de croissance cellulaire :

La croissance de la levure se présente principalement en quatre phases : phase latence, phase exponentielle, phase stationnaire et phase de déclin. Elle peut être encore distinguée plus précisément en rajoutant deux phases : phase d'accélération et phase de ralentissement.

Cette terminologie est souvent utilisée pour décrire la courbe de croissance dans un milieu liquide, mais la croissance des cellules dans un milieu solide présente de phases similaires.

Les deux phases les plus importantes de la courbe de croissance pour les études fondamentales ou les applications industrielles sont la phase exponentielle et la phase stationnaire. Dans la phase exponentielle, les cellules se divisent rapidement et la vitesse de division et le taux de croissance dépendent de la qualité nutritionnelle du milieu. Lorsque les éléments nutritifs essentiels deviennent limités, la croissance cellulaire ralentit ou même s'arrête. Lorsque les cellules atteignent la phase stationnaire, la levure contient une quantité plus élevée de tréhalose et de glycogène que dans les autres phases (**Michael Breitenbach et al., 2004**). Les cellules de la phase stationnaire sont capables de résister à un large nombre de stress (**Werner-Washburne et al., 1993**).

3.6. Conditions de culture de la *Saccharomyces cerevisiae* :

Pour sa culture, la levure boulangère exige certaines conditions tels que :

3.6.1. Des besoins nutritionnels :

Le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires aux systèmes cellulaires et aux besoins énergétiques de la levure.

a) Le carbone :

Les sources carbonées sont d'une grande importance pour les levures puisqu'elles fournissent le carbone exigé pour la biosynthèse de constituants cellulaires tels que les glucides, les lipides, les protéines, les acides nucléiques, etc. (**Aguilar Uscanga, 2003**). Les levures du genre *Saccharomyces cerevisiae* peuvent fermenter le glucose, le saccharose, le maltose, le raffinose, le cellobiose et le galactose et peuvent assimiler l'éthanol, l'acide lactique, l'acide citrique (**Aguilar Uscanga, 2003**).

b) L'Azote :

Toutes les levures sont capables d'utiliser l'azote sous forme d'ions d'ammonium, et l'urée pour constituer des protéines ; acide nucléique et des vitamines. (**Larpent, 1992**).

c) Le Phosphore :

S.cerevisiae utilise l'ortho phosphate, préférentiellement sous forme d'ion monovalent, comme unique source de phosphore (**Winter, 1988**). **Jones et coll (1981)** notent que cet élément sert à la synthèse des lipides, des hydrates de carbone et participe au maintien de l'intégrité membranaire.

d) Le Soufre :

Selon **Rose et Harrison (1971)**, le soufre est assimilé généralement sous forme inorganique. IL est transformé dans la cellule sous forme d'un acide aminé qui est la méthionine.

e) Le Potassium :

C'est l'élément minéral quantitativement le plus important. Source de Potassium: phosphate mono et dipotassique (K_2HPO_4 ou KH_2PO_4). Le potassium intervient dans les échanges avec les cations métalliques; il stimule la respiration et la fermentation à $pH < 7$; c'est un effecteur de nombreuses enzymes, enfin, il intervient dans la structure des ARN. La consommation est 2 fois plus grande en fermentation qu'en respiration (**Leveau et Bouix, 1993**).

f) Le Zinc :

Il a un rôle essentiel car c'est un co-facteur enzymatique indispensable dans la glycolyse. Il est nécessaire à la synthèse de vitamines (riboflavine), stimule l'action du magnésium et la pénétration du maltose et du maltotriose. La carence en traces de zinc réduit le pouvoir fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae* . (**Guinet et Godon, 1994; Leveau et Bouix, 1993**).

g) Les oligo-éléments :

Les levures ont besoin d'éléments nutritifs pour assurer un développement adéquat. Il s'agit de sels minéraux et d'oligoéléments nécessaires à de très faibles concentrations (**Larpen-Gourgoud et Sanglier, 1992**).

h) Les vitamines :

Les vitamines du groupe B ont été identifiées comme étant des facteurs de croissance : biotine (B8), acide pantothénique (B5), inositol (B7), thiamine (B1), pyridoxine (B6) et niacine (B3) (**Guinet et Godon, 1994**). On appelle «facteur de croissance », toute substance organique, apportée en petite quantité, dont la carence perturbe le métabolisme de la levure. Ce sont des métabolites essentiels : ils sont indispensables aux micro-organismes auxotrophes. Ils doivent leur être fournis car ils sont, pour la plupart, incapables de les synthétiser (**Leblonc, 1988**). En leur absence, il n'y a pas fermentation ; quand ils sont épuisés, la fermentation s'arrête.

3.6.2. Besoins physico-chimiques :

a) Le pH :

S. cerevisiae présente l'avantage de croître sur un milieu acide, pour lequel la plupart des bactéries ne se développent pas. Elle préfère un pH compris entre 4- 4,5 (**Larpen et Gourgoud, 1985**).

b) La température :

La température de croissance est variable suivant les espèces de levures. La température convenable pour la levure *S. cerevisiae* est entre 25°C et 35°C, ce sont des mésophiles (**Larpen et Gourgoud, 1985**).

c) La pression osmotique :

La levure *S. cerevisiae* est une espèce osmophile qui développe sur des milieux à forte concentration en sucres et en sel mais avec un métabolisme lent au contraire de certaines espèces (**Larpen et Gourgoud, 1985**).

d) L'aération :

Elle a pour but d'une part d'apporter l'oxygène nécessaire à la croissance des levures et d'autre part d'homogénéiser et d'assurer la circulation du moût dans le fermenteur. Cependant, il est intéressant de rappeler que la levure boulangère s'adapte à deux modes de vie, en présence ou en absence d'oxygène (Noui, 2001).

3.7. Principales applications de *S.cerevisiae* :

Les levures représentent certainement le groupe le plus important de micro-organismes exploités par l'homme. Depuis la plus haute antiquité, elles ont joué un rôle de premier ordre dans l'alimentation humaine : vinification, panification, brasserie, fromagerie.

Tableau 1: Les principales applications de *S. cerevisiae* (Camonis, 1990).

Produits de <i>S.cerevisiae</i>	Applications
Alcool et CO₂	Fabrication du pain, du vin, de la bière
Ethanol	Solvant
Glycérol	Chimie des matières plastiques industrie Pharmaceutique
Protéines alimentaires (à partir des mélasses et divers déchets alimentaires)	Alimentation de l'homme ou du bétail
Invertase	Confiserie

4. Les additifs alimentaires :

4.1 Généralité sur les additifs alimentaires :

Les additifs alimentaires sont les outils indispensables des industries agroalimentaires. Nulle autre catégorie de composés chimiques n'est, d'une part, aussi dépendante des besoins et demandes humaines et, d'autre part, à la fois tributaire et initiatrice d'avancées technologique.

Un additif alimentaire est défini aussi comme n'importe quelle substance habituellement non consommée comme un aliment en soi et non employée comme un ingrédient caractéristique de l'aliment, qu'il ait une valeur nutritionnelle ou non, dont l'addition intentionnelle à l'aliment pour un but technologique dans la fabrication, le traitement, la préparation, l'emballage, le transport ou le stockage devient, ou peut s'attendre raisonnablement à devenir, lui ou un de ses dérivés, directement ou indirectement, un composant de cet aliment (**Directive 89/107/EC, 1988**).

Selon le **Codex alimentarius (Codex Alimentarius, 1989)** : "Aux fins du codex alimentarius l'expression "additif alimentaire" s'étend de toute substance qui n'est pas normalement consommée en tant que denrée alimentaire en soi, et n'est pas normalement utilisée comme ingrédient caractéristique d'une denrée alimentaire, qu'elle ait ou non une valeur nutritive et dont l'addition intentionnelle à la denrée alimentaire dans un but technologique ou i organoleptique à une étape quelconque de la fabrication, de la transformation, de la préparation, du traitement, du conditionnement, de l'emballage, du transport ou du stockage de ladite denrée, entraîne ou peut entraîner (directement ou indirectement) son incorporation ou celle de ses dérivés dans la denrée on peut affecter d'une autre façon les caractéristiques de ladite denrée. L'expression ne s'applique ni aux contaminants, ni aux substances ajoutées aux denrées alimentaires dans le but d'en maintenir ou améliorer les propriétés nutritives.

Les additifs remplissent différents rôles tels que :

_ Conserver.

_ Lier.

_ Emulsifier.

_ Colorer.

_ Aromatiser, etc.

4.2 Classification des additifs alimentaires :

D'après CEE (Communauté économique européenne) l'additif alimentaire a été ajusté par la directive européenne 89/107/CEE avec 25 catégories et un code a été utilisé au niveau européen : Il se compose de la lettre "E" suivie d'un numéro permettant d'identifier facilement la catégorie « Exxx » allant de E100 a E1520 (Directive du Parlement européen : (94/34/CE ; 89/107/CEE) (**Tableau2**).

Tableau 2 : Codes des grandes familles d'additifs (**Adeinat., 2018**)

Codes	Catégories	Fonction
E100	Colorants	Donner ou Amplifier une couleur
E200	Conservateurs	Prolonger la durée de conservation en inhibant le développement des bactéries ou des moisissures
E300	Antioxydants	Réduire les phénomènes d'oxydation (rancissement des graisses)
E400	Agents de textures (épaississants, stabilisants, émulsifiants, gélifiants, texturants)	Donner une consistance particulière
E500	Antiagglomérants	Empêcher les poudres de s'agglomérer en captant l'humidité ambiante

E600	Exhausteurs de goût	améliorer le goût d'un aliment par une action sur l'intensité de notre perception gustative
E700	Agents de sapidité	Ajouter une saveur
E800	Arômes	Ajouter une saveur
E900	Édulcorants	Édulcorants Conférer une saveur sucrée,
E1400	Amidons modifiés	Epaississants plus stable et plus performants pour une préparation

4.3. Les émulsifiants :

D'après la **directive modifiée 95/2/CE (1995)** du Parlement européen, les émulsifiants sont : « des substances qui, ajoutées à une denrée alimentaire, permettent de réaliser ou de maintenir le mélange homogène de deux ou plusieurs phases non miscibles telles que l'huile et l'eau ».

Les émulsifiants sont la gamme d'additifs la plus utilisée dans l'industrie alimentaire. Environ 80% des émulsifiants alimentaires appartiennent à la famille des monoglycérides et des esters de mon glycérides. La lécithine vient en seconde position suivie par d'autres produits comme les sucroglycérides et sucro-esters. (**Gerard et al., 1998**)

Les agents émulsifiants sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour donner aux produits une consistance soyeuse et dense qui rend les aliments plus attrayants pour le consommateur

4.3.1. Caractéristiques et fonctionnalités des émulsifiant :

Une émulsion est une dispersion de gouttelettes d'un liquide non miscible dans un autre liquide. D'autres substances peuvent être dispersées dans des liquides en donnant une mousse

(gaz et liquide) ou une suspension (solide et liquide), Ses composés chimiques permettent la formation d'une émulsion stable dans le temps. **(Inghels, 2007)**

Les émulsifiants ont la propriété d'être absorbés en formant des films inter faciaux entre deux substances non miscibles. Ceci les rend indispensables dans l'industrie alimentaire qui utilise fréquemment des mousses, suspensions et en particulier les émulsions. La propriété des émulsifiants de se fixer à l'interface de deux liquides non miscibles est due à leur structure moléculaire.

5. La pectine ;

Les pectines sont des substances d'origine végétale. Ce sont des polysaccharides complexes que l'on retrouve principalement dans la lamelle moyenne et la paroi primaire des plantes supérieures **(Paquot et al., 2010)**.

La pectine (E440) est un polysaccharide composé majoritairement d'un enchainement par des liaisons $\alpha(1-4)$ d'acides D-galacturoniques qui peuvent être estérifiés par du méthanol ou amidés .

Les degrés d'estérification et d'amidation sont définis comme étant le nombre de fonctions carboxyliques méthylées et respectivement amidées pour cent motifs d'acide galacturonique. La pectine est généralement extraite à partir de sous-produits de fabrication de jus de citron et de pomme **(Gharsallaoui, 2008)**.

La pectine est également constituée de xylose qui s'insère dans la chaîne principale **(Liu et al., 2003)**. Il existe principalement plusieurs substances pectique, on y trouve les protopectines qui sont des pectines hydrolysées, puis les pectines qui sont des acides polygalacturoniques partiellement ou entièrement estérifiés. Ensuite les pectinates qui sont des sels de pectines, les acides pectiques qui sont essentiellement des acides polygalacturoniques non estérifiés. Enfin les pectates qui sont les sels d'acide pectique **(Liu et al., 2003)**.



Figure 5; pectine sous forme de poudre

5.1 La structure de la pectine ;

La pectine est une classe complexe de polysaccharides qui entrent dans la composition des parois cellulaires végétales. (Sous le n°E440). Le squelette de la pectine est composé majoritairement d'unités d'acide D-galacturonique reliées en α -(1→4) par des liaisons glycosidiques et de faible quantité de α -L-rhamnose plus ou moins ramifiés (**Fishman et Jen, 1986**) (**figure 6**)

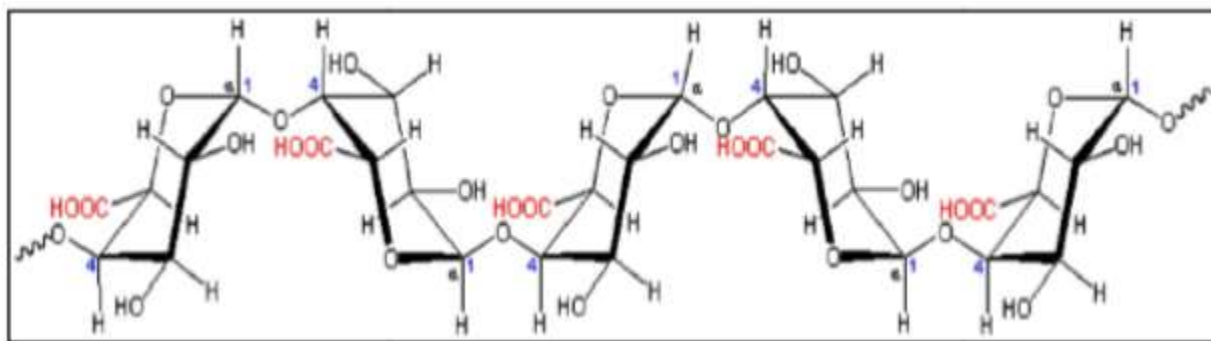


Figure 6: Molécule de la pectine (**Fishman et Jen, 1986**).

La structure fine des pectines peut varier en fonction de l'espèce végétale considérée, le stade de développement, la localisation pariétale ou tissulaire et la méthode d'extraction (**Ridley et al., 2001 ; Thakur et al., 1997**)

5.2 Principale source de pectine :

La pectine est contenue naturellement dans l'endocarpe des fruits sous forme de protopectines qui sont libérées sous forme de pectines lors de la cuisson. La teneur en pectines des fruits est variable en fonction de la nature de fruits et de leur maturité (Michel, 2002)

La teneur en substances pectiniques des plantes varie en fonction de son origine botanique et de son histoire (mode de culture, période de plantation croître...).

Bien que la pectine puisse être extraite d'un grand nombre de plantes. les sources industrielles principales sont le marc de pomme et les écorces d'agrumes (citron, orange) D'un point de vue nutritionnel, les pectines sont considérées comme des fibres solubles ayant une forte capacité de rétention d'eau (Donato, 2004)

Tableau 3: Principales sources de pectines d'intérêt industriel (Paquot et al., 2010).

Fruit	Teneur en substances pectiques
Zeste d'orange	3,5-5,5
Pulpe de citron	2,5-4,0
Pomme	0,5-1,6
Banane	0,7-1,2
Pêche	0,1-0,9
Fraise	0,6-0,7
Tomate	0,2-0,6
Carotte	0,2-0,5
fruit de passion	0,5
Mangue	0,26-0,42
Ananas	0,04-0,13

L'industrie utilise des ressources abondantes Pectine, comme le marc de pomme (restes de pomme écrasés et pressés) ou la pelure Agrumes riches en pectine (précurseurs de la pectine liés à d'autres ingrédients) et de l'acide pectique. D'autres sources moins utilisées existent, telles que Betteraves, mangue et fruit de la passion.

5.2 Extraction de la pectine :

Il existe de nombreuses méthodes pour extraire la pectine sont, pour la plupart, peu coûteuses et faciles d'utilisation. La pectine est un bio polymère largement disponible, peu coûteux, biodégradable, biocompatible, non toxique a certaine dose.

Les pectines sont des hydrocolloïdes et à ce titre sont fréquemment isolées après extraction en solution aqueuse (à froid ou à chaud) et précipitation dans l'alcool. Le précipité ainsi obtenu est dissout dans l'eau, filtré, dialysé contre de l'eau distillée, parfois dépigmenté par passage sur cartouche C-18 et enfin lyophilisé pour être conservé (**Brudieux, 2007**).

A une échelle industrielle, les pectines sont extraites dans l'eau chaude (généralement 90 à 100°C), en milieu acide (pH compris entre 1,5 et 3) et pour des temps variables (0,5 à 6heures) (**Brudieux, 2007**).

5.3 Propriétés physico-chimiques :

a. Solubilité :

La structure de la pectine la rend insoluble dans les solvants organiques et solubles dans l'eau. La solubilité dans l'eau est généralement dépendante de la distribution des groupements méthoxylés et de la masse molaire. La solubilité de la pectine augmente avec la diminution du DM (**Chen, 2015**) et pour les petites masses molaires de pectine (**Thakur, 1997**). De plus, la présence de groupements chargés sur le polymère entraine des répulsions électrostatiques entre ces groupements chargés, ce qui diminue la formation d'agrégats et facilite sa solubilité. (**BeMiller, 1986**), La pectine se solubilise grâce à 3 étapes successives : hydratation, gonflement et dissolution (**Chen, 2015**).

b. Stabilisants :

Les stabilisants sont des additifs qui permettent de maintenir l'état physico-chimique du produit. Ils stabilisent les phases non miscibles entre elles et évitent la séparation des constituants du produit. Trois stratégies sont envisageables pour obtenir cette propriété. La première consiste à augmenter la viscosité de la solution. La deuxième crée un réseau assurant le maintien en

suspension des particules. Le troisième masque les éléments qui peuvent interagir entre eux (Tilly, 2010).

c. Viscosifiants :

La viscosité est la grandeur qui relie le taux de cisaillement à la contrainte. Les agents dits viscosifiants ont la propriété de modifier le comportement de la phase continue, sans former des zones de jonction contrairement aux gélifiants et certains stabilisants. La pectine HM possède cette caractéristique due à son haut poids moléculaire. Ainsi, on retrouve son utilisation dans les boissons fruitées (Tilly, 2010).

Le pouvoir d'épaississement dépend, aussi, des conditions extrinsèques (température, nature de solvant, pH) (Hotchkiss *et al.*, 2002 ; Mesbahi *et al.*, 2005).

d. Emulsifiants :

Le pouvoir émulsifiant des pectines est influencé par les caractéristiques structurales de celles - ci et les conditions extrinsèques comprenant la concentration en polymère et le pH de la solution (Nguemazong *et al.*, 2015)

Des études ont mentionné la probabilité que le calcium induirait une floculation liante (Leroux *et al.*, 2003). D'autres travaux récents, ont montré que les pectines dépolymérisées (préparées par hydrolyse acide d'une pectine de poids moléculaire 150 KDa) de poids moléculaire inférieur à 80 KDa provenant des agrumes et des pommes, peuvent posséder de bonnes caractéristiques de stabilisation d'émulsion même si elles sont faiblement acétylées (<0.8%).

Ce bon comportement d'émulsification s'est avéré pour être associé à une activité de surface beaucoup plus élevée de la pectine dépolymérisée par rapport au citron ou à la pectine normale de pomme (Akhtaret *et al.*, 2002).

e. Gélifiants :

Les pectines sont capables de former des gels par différents mécanismes, quel que soit leur degré de méthylation. Pour le cas des pectines HM, le degré d'estérification (DE) conditionne la rapidité de la prise du gel, plus il est élevé, plus la formation du gel est rapide. Les pectines faiblement méthylées (LM) sont capables de fixer fortement les ions divalents tels que le calcium. Pour les pectines LM amidées, la cinétique de gélification est proche de celle des pectines LM classiques, néanmoins, la présence des groupements amides permet la gélification des pectines LM à pH acide inférieur à 3 (Capel *et al.*, 2006).

➤ Gélification des pectines hautement méthylées :

La gélification des pectines HM est permise par un ensemble de liaisons hydrogènes et d'interactions hydrophobes formant un réseau tridimensionnel, comprenant un solvant (figure7).

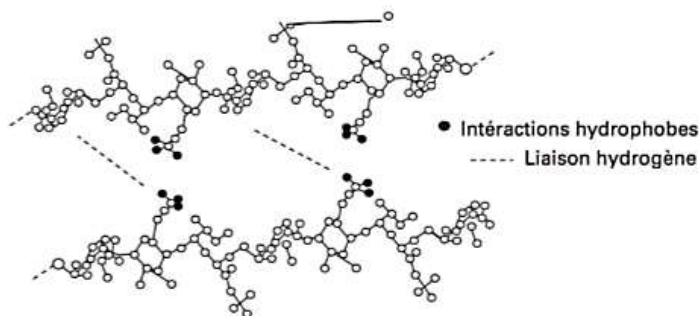


Figure 7 : Zone de jonction des pectines HM lors de la gélification (Tilly, 2010).

Les pectines HM sont capables de former un gel à pH acide (2.20 - 2.80) en présence d'un sucre, par exemple : le saccharose (Voragen *et al.*, 1995). Ces deux éléments favorisent les interactions pectine - pectine plutôt que les interactions pectine - eau, ceci suite à la diminution des répulsions électrostatiques (pH acide) et de l'activité de l'eau (présence de sucre) (Sato et Miyawaki, 2008). Dans ce cas, le mécanisme de gélification correspond à la formation d'interactions hydrophobes entre les groupements méthyles et les liaisons hydrogènes entre les groupements carboxyliques des résidus d'acide galaturonique non estérifiés et les alcools secondaires (Oakenfull et Scott, 1984).

➤ Gélification des pectines faiblement méthylées :

La pectine LM possède moins de 50% de fonctions carboxyliques qui sont estérifiées. Celle-ci possède des interactions similaires à la pectine HM (liaisons hydrogènes et liaison hydrophobes). Cependant, la pectine LM est capable de former des liaisons de coordination en présence de cations donnant naissance à un réseau.

La présence de cations avec la pectine entraîne la formation d'interactions entre les chaînes, formant des ponts cationiques. Ces associations sont responsables de la formation d'un gel (**Ravanat 1980**) (**figure 8**). La force de ces interactions est influencée par des facteurs intrinsèques (masse molaire, régions ramifiées, distribution des groupements méthoxylés) et extrinsèques (pH, température et concentration en cation, nature du cation) (**Capel 2005**). L'influence du pH est importante lors de la formation de ce type de gel. Pour un pH supérieur à 4,5, la pectine est chargée négativement par ses groupements carboxyles, ce qui assure une attraction électrostatique et la formation d'un gel en présence de cations (**Capel 2006**).

Dans la littérature, plusieurs modèles se sont suivis pour décrire ces interactions. A noter que dans ces modèles, les régions ramifiées et les fonctions d'acides estérifiées sont des facteurs limitant des zones de jonctions. Ainsi, ce type de liaison est considéré comme stable lorsqu'au moins sept motifs de répétitions d'acide galacturonique se suivent et participent aux liaisons de coordination (**Powell, 1982**).

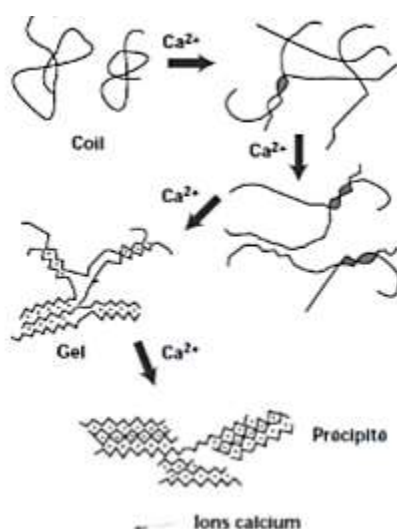


Figure 8 : Mécanisme de gélification de la pectine LM (Tilly, 2010)

5.4 Utilisations des pectines :

Les substances pectiques ont fait l'objet de nombreuses recherches portant notamment sur leurs fonctions au sein de la paroi végétale, leur structure chimique et leur caractérisation en tant qu'additifs. Toutes ces recherches ont conduit au développement de nombreuses applications de la pectine dans divers domaines tels que : l'industrie cosmétique et plastique. Ces substances pectiques sont essentiellement utilisées comme agents de texture, gélifiants, stabilisants et épaississants (May, 1990 ; Thakur et al., 1997 ; Mesbahi et al., 2005). D'un point de vue nutritionnel, les pectines sont considérées comme des fibres alimentaires qui exercent des effets physiologiques sur le tractus intestinal en réduisant le temps du transit et l'absorption du glucose (Olano-Martin et al., 2002). Elles sont utilisées aussi comme ingrédient dans la préparation des confitures, des marmelades et des gelées.

Les pectines sont employées dans la fabrication de l'emballage alimentaire comme films comestibles biodégradables, respectant l'environnement (Espitia et al., 2014).

Les pectines sont aussi utilisées dans le domaine pharmaceutique comme agents anti diarrhée, pour la désintoxication et l'élimination du cholestérol dans le sang (Voragen et al., 1995).

6. Généralité sur la toxicité

La toxicologie est depuis longtemps reconnue comme étant la science des poisons. Elle étudie les effets nocifs des substances chimiques sur les organismes vivants. Elle fait appel à une multitude de connaissances scientifique. C'est une substance capable de perturber le fonctionnement normal d'un organisme vivant. Il peut être de source naturelle ou artificielle, ou de nature chimique ou biologique. (Gilles, 2004)

La **toxicité** englobe l'ensemble des effets néfastes d'un toxique sur un organisme vivant. Autrement dit, il s'agit de la capacité inhérente à une substance chimique de produire des effets nocifs chez un organisme vivant et qui en font une substance dangereuse.

L'effet néfaste est lié à la **dose**, à la **voie d'absorption**, au **type** et à la **gravité** des lésions ainsi qu'au **temps** nécessaire à l'apparition d'une lésion. . (Gilles, 2004)

Chapitre II :

Matériels et Méthodes

1. Objectifs du travail :

Dans cette optique, Notre travail consiste à étudier la toxicité de la pectine qui est utilisée comme un additif alimentaire rajouté dans la conserverie sur un micro-organisme, la levure « *Saccharomyces cerevisiae* ».

2. Matériels biologique :

La souche que nous avons choisie durant cette étude est la levure instantanée boulangère « *Saccharomyces cerevisiae* ». La levure est utilisée dans l'élaboration du vin, du pain.

Le choix de cette espèce est établi sur les caractères suivants ; culture facile, conservation de ses critères biochimique, rapidité de croissance, aucun risque de variation génétique, fermentation élevée.



Figure 9: Micrographie de *S. cerevisiae* (Tortora et Anagnostakos, 1987)

Matériel chimique :

Dans notre étude, nous avons choisi la pectine qui est le polysaccharide le plus complexe structurellement.

Ces substances ont fait l'objet de nombreuses recherches portant notamment sur leurs fonctions au sein de leur structure chimique et leur caractérisation en tant qu'additifs. Toutes ces recherches ont conduit au développement de nombreuses applications dans des domaines aussi différents que l'industrie cosmétique, plastique et pharmaceutique,

mais l'utilisation la plus importante se situe dans l'industrie alimentaire où les pectines sont essentiellement utilisées comme agents de texture, gélifiants, stabilisants et épaississants (**Thakur et al., 1997 ; Mesbahi et al., 2005**).

3. Mode expérimental ;

Le présent travail a été effectué dans un des laboratoires pédagogique de la faculté 8 mai 1945 GUELMA

4. Preparation de la culture de levure ;

4.1 Lavage de levure :

La levure d'origine industrielle comme la levure de boulanger est conditionnée en pâte ou lyophilisée à partir de culture menée dans un milieu riche en substrats. En conséquence, ces substrats sont souvent présentes dans ces préparations et les levures mises en suspensions dans l'eau respirent et/ou fermentent spontanément.

Dans ces conditions, il est difficile voire impossible de mener des mesures fiables sur le métabolisme énergétique. Aussi, avant toute expérience comportant des mesures sur le métabolisme énergétique, il est nécessaire de laver soigneusement les levures pour éliminer toute trace de substrat dans le milieu (**Pol, 1996**).

4.2 Protocole de lavage ;

- Préparer une suspension de levure en mettant les cellules dans un tube à essai puis rajouter de l'eau (Solution NaCl à 9 g/L) sur un vortex en agitant suffisamment.
- Centrifuger la suspension (3000 tours/ 5 min) et éliminer le surnageant.
- Remettre les cellules en suspension dans de l'eau minérale (Solution NaCl à 9g/l) en agitant puis centrifuger.
- Recommencer et mettre les levures en suspension dans le milieu désiré (**Pol, 1996**).

4.3 La mise en culture ;

- Préparer une suspension de levure (1 g dans 100 ml de Tampon Phosphate) après avoir procédé au lavage de levures, avec un pH= 5 qui est optimal pour le développement des levures et trop bas pour permettre un développement de bactéries, de même, la température de 26°C est optimale.
- Mettre en agitation douce et faire buller de l'air pendant 2 heures.
- Préparer une dilution de 1/20 avec le milieu de culture dans une cuve standard chaque 30 minutes.
- Après avoir fait le zéro d'absorbance sur le milieu nutritif qui contient 1g de glucose et de l'eau distillée (sans levures), Mesurer l'absorbance de l'échantillon dilué avec un spectrophotomètre (JENWAY 6100) à une longueur d'onde à $\lambda = 660 \text{ nm}$, sans oublier d'agiter la cuve avant chaque mesure.
- Élaboration de la courbe de l'absorbance en fonction du temps, $DO = f(T)$ (pol,1996)

4.4. Traitement

Nous avons opté pour un type de toxicité qui nous permet d'obtenir une réponse biologique en un temps assez court. De plus la recherche sur la toxicité sublétales est nécessaire pour la compréhension des effets toxiques autres que létaux puisque ce sont ces effets qui s'expriment le plus souvent dans les situations réelles de pollution environnementale.

D'après les tests de la toxicité de la pectine chez les rats, le groupe d'experts a approuvé cette conclusion que dans des études subchroniques avec des pAOS dans l'alimentation de rats, une NOAEL de 1 700 mg/kg pc par jour a été identifiée et une exposition affinée allant jusqu'à 442 mg/kg p.c. par jour pour les enfants en bas âge de ces catégories (scénario "fidèle à la marque") a été estimée. Selon les données nous avons choisi une échelle de concentrations qui varie entre 3.25g et 3.75g.

à partir de la poudre du pectine, nous avons préparé quatre solutions, chacune de ses dernier contient une concentration de pectine dans un 950ml de milieu de culture (l'eau – glucose) correspondant respectivement à 3.25, 3.4, 3.5, 3.75 g/l et un échantillon témoin (T).

5. les paramètres à étudier ;

5_1 cinétique de croissance cellulaire ;

Le paramètre physiologique étudié est la cinétique de croissance des levures qui s'effectue par la mesure de la densité optique DO à la longueur d'onde $\lambda = 660\text{nm}$ en fonction du temps (Pol, 1996).

Selon les différents traitements de pectine effectués dans des milieux de culture et une cinétique de croissance est suivie en fonction du temps pour les témoins et les traitées d'après le protocole suivant :

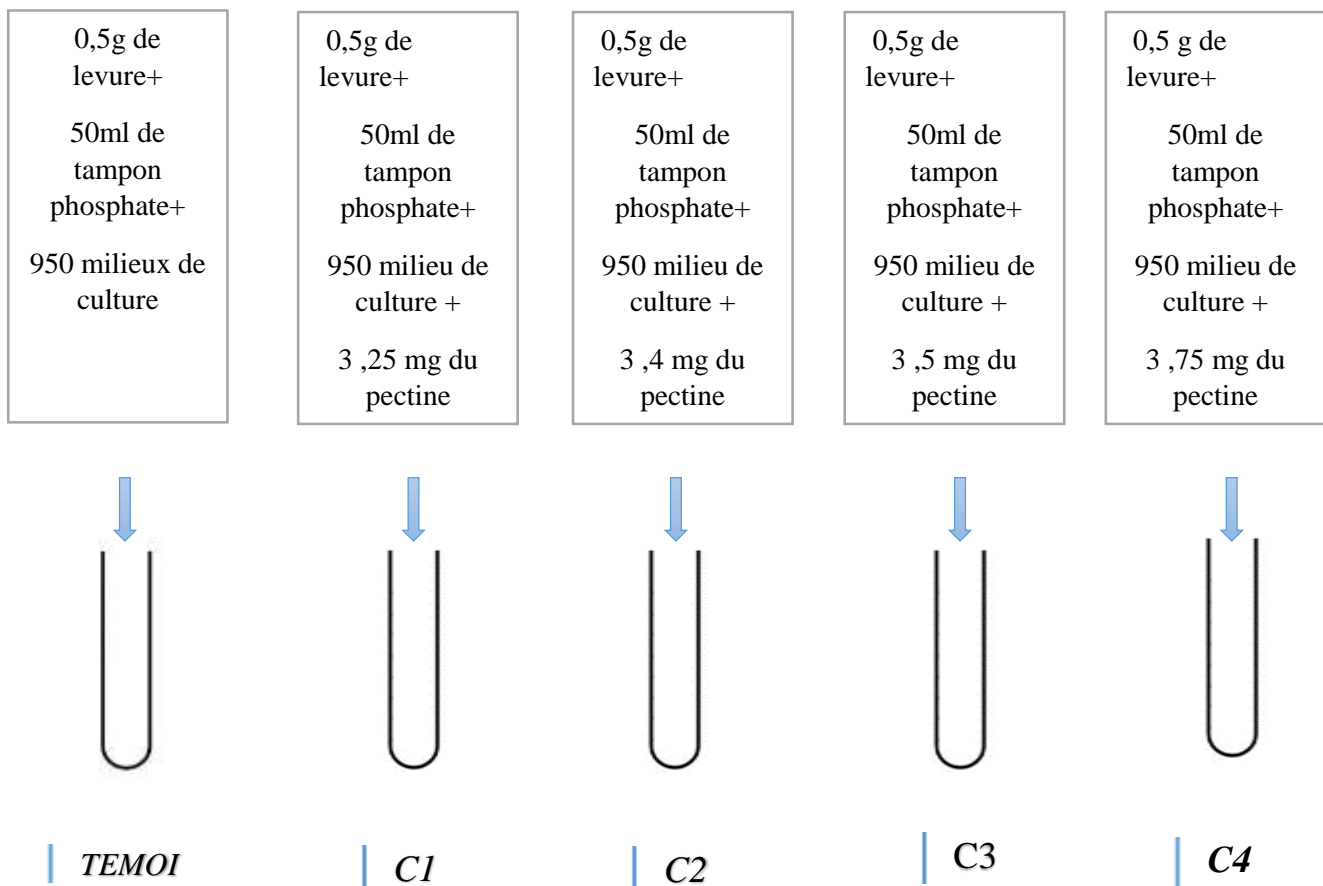


Figure 10 : explication du protocole de la cinétique de croissance.

Lecture de la densité optique à 660nm en temps courts ;

- T0min
- T30min
- T1h
- T1h30min
- T2h
- T2h30min

Lecture de la densité optique a 660nm en temps long ;

- 24h
- 48h
- 72h

5-2 dosages des protéines totales ;

5.2.1. Principe de la méthode ;

Les protéines sont mesurées par colorimétrie selon la méthode de **Bradford (1976)**.

Cette méthode est basée sur le changement d'absorbance, se manifestant par le changement de la couleur du bleu de Coomassie après liaison avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines.

5.2.2 Technique de dosage des protéines ;



Lire la longueur d'onde à 595nm (spectrophotomètre type **SPECTRUM SP-UV 2005**)

Figure 11 : protocole expérimental du dosage des protéines (**Bradford, 1976**)

5-3_ Mesure de l'activité Catalase (CAT):

La mesure de l'activité Catalase (CAT) est déterminée selon la méthode de **Regoli et Principato (1995)** dont le principe repose sur la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à une longueur d'onde de 240 nm.

La levure est broyé aux ultrasons dans 1 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7). L'homogénat est centrifugé à 15000 g/ 10 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes.

Pour un volume final de 1 ml, le mélange réactionnel contient: 20 µl de surnageant, 200 µl de Peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (500 mM) et 780 µl de tampon (0,1 M, pH 7,5).

La réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée.

L'activité Catalase est calculée selon la formule suivante:

$$\text{Activité CAT } (\mu\text{mol/min/mg prot}) = \frac{\Delta\text{DO} \times 10}{\varepsilon \times L \times 0,05 \times \text{mg de protéines}}$$

X : µmoles de H₂O₂ consommées par minute et par mg de protéines.

Δ Do : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

ε : Le coefficient d'extinction linéique molaire est de 40 M⁻¹. Cm⁻¹

L: Longueur de la cuve utilisée (1cm).

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant une minute toutes les 15 secondes (spectrophotomètre, Jenway 63000) pour une longueur d'onde λ = 240 nm.

CHAPITRE III:
Résultats

1_ Effet de la pectine sur la croissance des levures :

Les courbes de croissance représentent des données quantitatives permettant d'effectuer une analyse fiable de l'effet toxique d'une substance donnée.

La figure (12) représente l'effet de concentrations croissantes (3.25 , 3.4 , 3.5 , 3.75 g/l) de la pectine sur les variations de la densité optique durant des temps courts (1h , 2h , 3h , 4h) et des temps longs (24h , 48h , 72h).

On observe une stabilité de croissance des cellules témoins durant les 3 premières heures, sachant que la DO dépasse 0,1nm (c'est la phase de latence).

Dans la deuxième phase (de 3h à 48h) il y a une augmentation de la vitesse de croissance qui atteint 0,694 nm (c'est la phase exponentielle). Puis elle redevient stable dès les 72 heures.

Parallèlement, nous remarquons que les cultures des deux faibles concentrations (3,25 g/l, 3,4g/l) suivent le même rythme des cellules témoins.

Par contre, les traités par la troisième concentration (3,5g/l) ont pris plus de temps dans la phase de latence jusqu'à la 4^{ème} heure pour atteindre la phase exponentielle avec une DO= 686 nm.

Au dernier, les traités par la quatrième concentration (3,75g/l) ont rapidement atteint la phase exponentielle pour arriver à une DO= 0.616 nm et tout de suite reprendre une phase stationnaire.

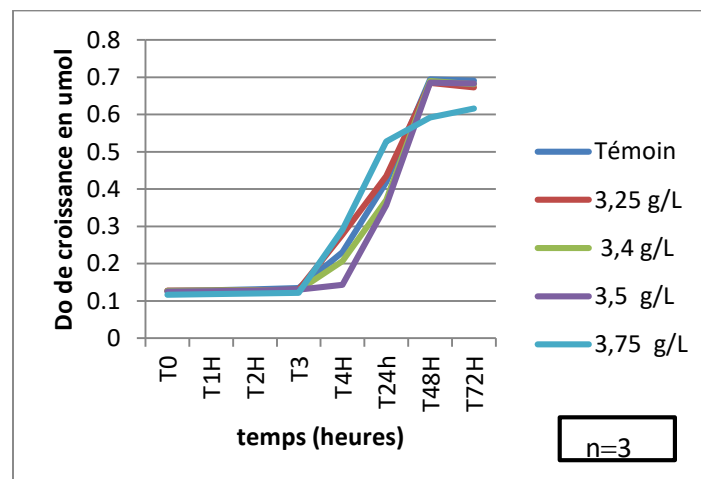


Figure 12: Effet de la pectine sur les variations de la croissance des *Saccharomyces cerevisiae*.

2_Effet de la pectine sur le taux des protéines totales des levures :

La figure (13), illustre l'effet de la pectine sur les variations du taux de protéines totales chez les levures traitées par les différentes concentrations (3.25, 3.4, 3.5, 3.75 g/l) par rapport aux témoins.

Ainsi, Nous remarquons une stabilité du taux des protéines des cellules témoins et des traitées aux faibles concentrations (3.25, 3.4, 3.5 g/l) pendant les 4 premières heures à 0.03 µg/ml. Le taux de protéines totales augmente suivant les différentes phases de croissance des levures pour atteindre un taux de 0,07 µg/ml aux 48 heures suivantes.

Par contre, le taux des protéines chez les cellules traitées par la plus forte concentration (3,75g/l) augmente plus tôt que les autres cultures dès les 3 premières heures jusqu'à arriver à un taux de protéines égale à 0,068 µg/ml dans les 24 heures suivantes puis se stabiliser dans la phase stationnaire.

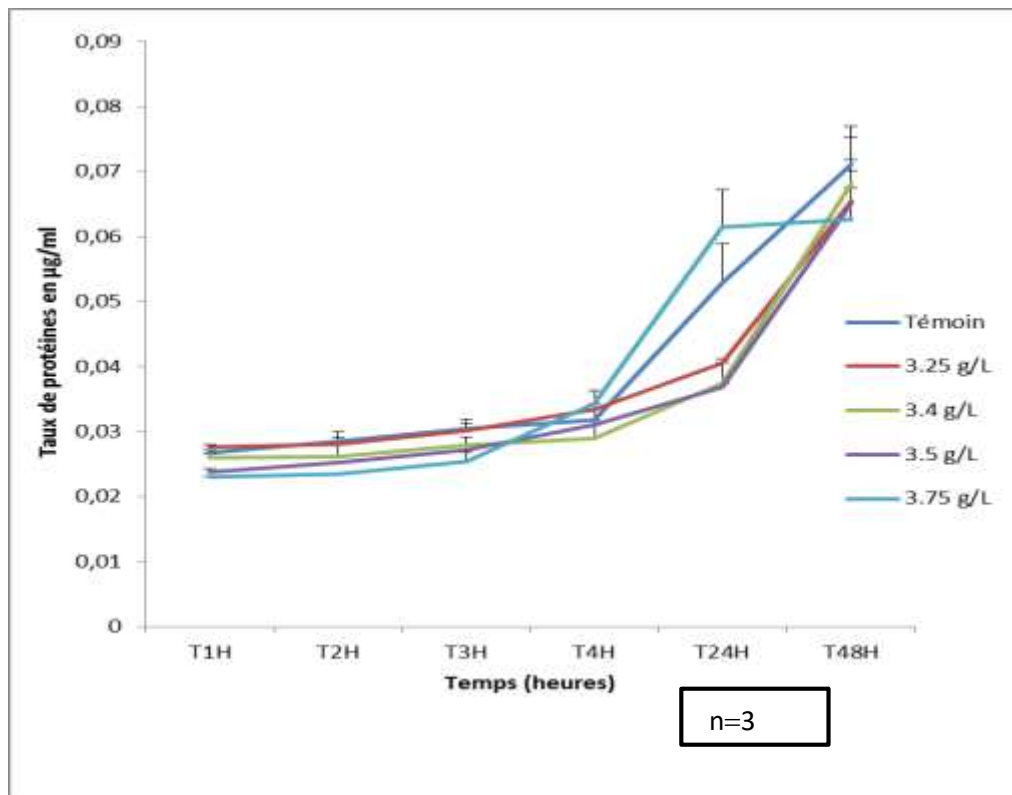


Figure 13: Effet de la pectine sur les variations des protéines totales chez *Saccharomyces cerevisiae*.

3_Effet de la pectine sur l'activité du Catalase des levures :

La figure (14), démontre l'effet de la pectine, sur les variations du taux de la Catalase chez les levures traitées par différentes concentrations (3.25, 3.4, 3.5, 3.75 g/l) par rapport aux témoins.

On observe dans cette figure que le taux de la Catalase chez les cultures témoins et traitées aux plus faibles concentrations (3.25g/l et 3.4g/l) de la pectine est dans un intervalle de 16,885 à 18,728 $\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg}$ prot qui est presque le même, tandis qu'il est de 23,240 $\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg}$ prot chez les traitées par la concentration 3.5 g/l qui est le taux le plus élevé de Catalase par rapport aux témoins. Cette enzyme chez la plus forte concentration atteint le plus faible taux qui est de 14,732 $\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg}$ prot.

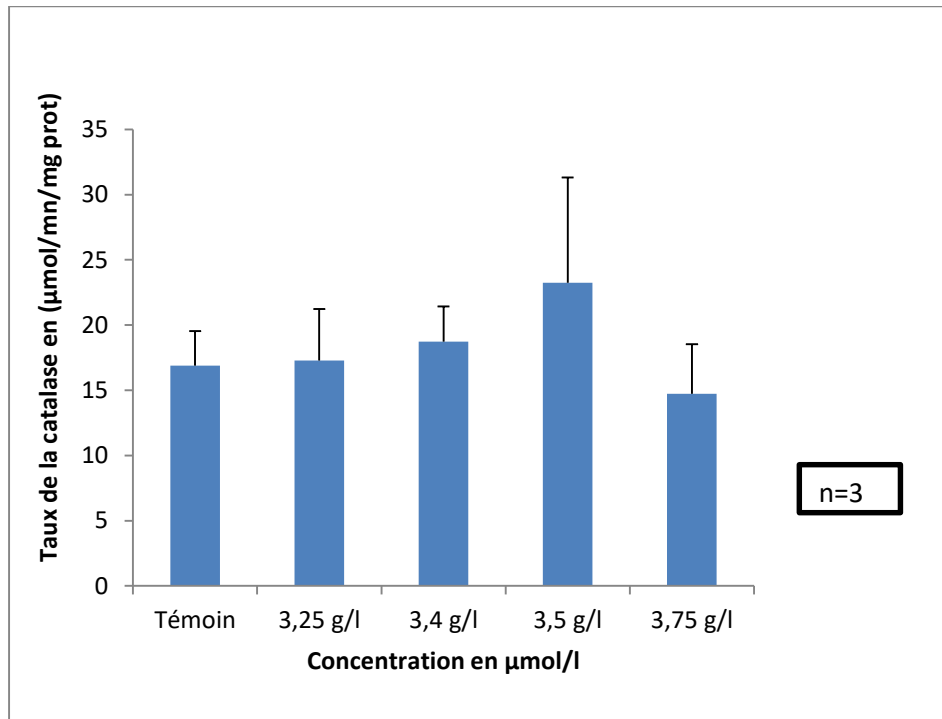


Figure 14: Effet de la pectine sur les variations de la Catalase chez *Saccharomyces cerevisiae*.

Chapitre IV :

Discussion et conclusion

Discussion :

Les additifs alimentaires sont les outils indispensables et nécessaires des industries agroalimentaires. Nulle autre catégorie de composés chimiques n'est, d'une part, aussi dépendante des besoins et demandes humaines et, d'autre part, à la fois tributaire et initiatrice d'avancées technologiques. (**Brigand et al., 1998**)

En raison de la quantité et de la diversité des additifs présents dans l'alimentation, il peut être très difficile d'établir le lien entre un problème de santé et les additifs, et d'isoler la substance responsable d'un problème de santé particulier. Certains additifs sont **reconnus comme potentiellement cancérigènes** avec la présence de nombreux autres effets délétères sont rapportés. Parmi les plus courants, communs à de nombreux additifs, on compte notamment : les allergies, l'hyperactivité, l'asthme, les insomnies, les troubles digestifs, les troubles neurologiques, les rhinites, les atteintes à un organe en particulier comme le foie ou les reins. Certains additifs sont même fortement suspectés d'être mutagènes, et de favoriser les malformations congénitales. (**Gouget, 2014**).

La propriété gélifiante des pectines leur donne un grand intérêt dans l'industrie alimentaire. Elles sont aussi utilisées comme ingrédient dans la préparation des confitures, des marmelades et des gelées. Des études récentes de **Sriamornsak, (2003)** et **Voragen et al. (1996)** cités par Visser et **Voragen (1996)** ont montré que les pectines peuvent être utilisées comme stabilisateur d'émulsion. Ces dernières sont également utilisées comme stabilisateur pour les acides (des produits laitiers). On leur trouve des applications dans le domaine pharmaceutique où elles sont utilisées comme agents anti diarrhée, pour la désintoxication, régulateurs et protecteurs gastro-intestinaux. Elles ont notamment un effet efficace pour l'élimination du cholestérol dans le sang (**Garcia-Diez F et al., 1996**).

Il est important d'évaluer le comportement et d'étudier la toxicité des additifs alimentaires dont la pectine dans les populations d'organismes constituant les premiers maillons de la chaîne alimentaire (**Angélique, 2008**).

Le fait que quelques microorganismes soient des eucaryotes dotés de toutes les structures d'une cellule de métazoaires permet l'extrapolation des moindres variations.

Nous avons choisi la levure «*Saccharomyces cerevisiae* » comme modèle biologique, car l'utilisation des champignons microscopique comme les levures dans ces tests sont efficaces car ces derniers sont caractérisés par leurs croissances rapides et leur vaste distribution dans l'environnement naturel. Elles ont une grande sensibilité vis-à-vis des variations de l'environnement (polluants). Ce qui les rends d'excellent bio-indicateur. (Perez-Rama, 2001)

Pour une évaluation d'une toxicité subaiguë de la pectine sur la levure, nous avons étudié quelques paramètres physiologique et biochimique.

1) Quel sont les effets de la pectine sur la croissance cellulaire ?

Les xénobiotiques sont des molécules étrangères à l'organisme, en général de nature organique, et susceptibles d'exercer des effets toxiques en fonction de la période, la durée et la dose d'exposition. On peut classer également dans cette catégorie aussi bien les contaminants alimentaires que les médicaments.

En présence d'un xénobiotique l'organisme cellulaire ajuste son comportement aux facteurs de stress toxique présents, ce résultat est en accord avec les travaux de **Hellung-Larsen et al. (1993)**. Tous les xénobiotiques testés des études précédentes sont toxiques directement à travers une atteinte de l'environnement immédiat des animaux (milieu) ou indirectement en réduisant leur croissance par le biais d'une atteinte de leur système endocrinien ou en induisant une immunosuppression (**Sparling et al., 2000**).

L'évaluation des effets cytotoxiques d'un xénobiotique peut être réalisée en utilisant différents paramètres, parmi lesquels la croissance cellulaire qui est un excellent bio indicateur d'une éventuelle toxicité (**Sauvant et al., 1999 ; Perez-Rama et al., 2001**). Ce paramètre peut être évalué par un dénombrement de cellules ou la mesure de la densité optique de la culture biologique.

Toutes perturbations de la croissance (inhibition ou stimulation) reflètent l'état du métabolisme cellulaire. Plusieurs travaux ont mis l'accent sur la croissance cellulaire dans l'appréciation et le screening de divers xénobiotiques.

Nos résultats montrent que les cellules témoins ainsi que les traitées par les plus faibles concentrations n'ont pas été influencé par la Pectine ce qui a été bien déterminé par les

différentes phases de croissances des micro-organismes de la phase de latence à la phase de déclin.

L'impact du stress oxydatif est plus sensible pour les cellules en phase exponentielle qu'en phase stationnaire (**Jamieson et al., 1994; Izawa et al., 1996**). Ce qui explique le passage rapide des cellules traitées par les plus fortes concentrations de la pectine de la phase exponentielle en phase stationnaire. Malgré ces faibles perturbations, La croissance n'a pas été inhibée. Ceci n'indique pas un impact négatif aboutissant à une toxicité de la pectine sur la levure.

Les microorganismes en présence de xénobiotique, toxines ou composés peroxydés par exemple, ont la capacité de développer un processus de détoxification et ce processus est d'ordre biochimique (**Peccini et al., 1994 ; Massaya et al., 2002 ; Redouane-Salah, 2004**).

L'hypothèse la plus plausible avancée, est la formation de «radicaux libres». Une première origine des phénomènes radicalaires est la formation initiale de l'anion superoxyde, le plus courant des radicaux oxygénés libres (ROL).

2) **Quel sont les effets de la pectine sur le métabolisme des protéines ?**

Soumis à un stress exogène, les microorganismes ont la capacité de développer toute une batterie de réponses capable d'enclencher un processus de détoxification, vis-à-vis des xénobiotiques afin de lutter, et/ou de s'acclimater face au stress chimique (**Lagadic et al., 1997 ; Perez-Rama, 2001**). Ce processus est d'ordre biochimique et consiste entre autres en la synthèse de protéines (**Davies, 1987**).

Pendant la fermentation, lors de la production des boissons alcoolisées, du bioéthanol ou des autres produits fermentés, la levure *Saccharomyces cerevisiae* est stressée par l'augmentation de la concentration en l'éthanol dans le milieu (**Attfield, 1997; Aguilera et al., 2006; Hirasawa et al., 2007; Ding et al., 2009; Zhao and Bai, 2009; Ma and Liu, 2010; Stanley et al., 2010**).

L'éthanol influence le métabolisme, la biosynthèse des macromolécules (production des protéines « heat-shock »), diminue la vitesse d'accumulation des protéines, dénature des protéines intracellulaires,... (Hu *et al.*, 2007; Ding *et al.*, 2009).

Il en est de même des travaux de Chagra *et al.* (2007); Azzouz (2012) Amamra *et al.* (2015) et Boucenna (2009), qui ont mis en évidence une augmentation significative du taux de protéines sous l'effet d'un stress chimique chez des modèles biologiques différents protistes ciliés ou encore les têtards.

Les interactions entre les protéines et la pectine deviennent de plus en plus nombreuses avec la diminution du pH du système mixte (protéines de lactosérum-pectine) qui s'accompagne avec l'augmentation de la charge positive des protéines. (Jones *et al.*, 2009).

Cette augmentation des pools de protéines totales pourrait être due à l'activation de gènes dont le gène HSPs (Heat shock proteins / les protéines de choc thermique) responsable de l'induction du pool de protéines chez la levure *Saccharomyces.S.* Soumis à un stress abiotique pouvant entraîner une forte perturbation de croissance comme le confirme (Wang, 2016).

Les protéines sont les constituants majeurs de la cellule et toute fluctuation de leur taux peut être considérée comme une réaction au xénobiotique, le démontre le travail de recherche de khebbab(2016).Ainsi l'augmentation des teneurs en protéines cellulaires chez les levures traitées témoigne l'induction des systèmes enzymatiques en vue de neutraliser la production des ROS.

Nos résultats sont en accord avec les travaux suscités, en effet, nous avons pu mettre en évidence une atteinte du métabolisme des levures à travers la perturbation du taux de protéines totales. Selon Benosmane (2015), lorsque le changement (stress) n'est pas intense et les concentrations de xénobiotique dans l'organisme sont encore faibles, l'organisme déploie une batterie de réponses à travers l'activation de leurs mécanismes de détoxification afin de lutter, de survivre et de s'acclimater à ce nouveau paramètre. Il en est ainsi de **l'induction des enzymes de la métabolisation/détoxification pour la prise en charge du xénobiotique tant que la balance xénobiotique/enzyme penche pour le second paramètre.**

3) Quel sont les effets de la pectine sur les bio- marqueurs enzymatiques (la Catalase) ?

Le déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants est la cause du stress oxydatif, dans lequel l'activité de l'oxydant est supérieure à la capacité de neutralisation l'antioxydant. (Lykkesfeldt et Svendsen, 2007).

L'accumulation des DRO active le métabolisme antioxydant et accélère le mécanisme d'élimination des radicaux libres, y compris l'activité enzymatique (Jamieson *et al.*, 1998; Sugiyama *et al.*, 2000; Pereira de Jesus *et al.*, 2003; Lu *et al.*, 2005; França *et al.*, 2007; Skoneczna *et al.*, 2007; Veal *et al.*, 2007, Benosmane *et al.*, 2015).

Certaines principales enzymes antioxydantes comme la Superoxydes-dismutase(SOD), la Catalase (CAT), et les molécules activateur d'enzymes tel que la Glutathion peroxydase(GPX), la Glutathion réductase(GR), la Glutathion S-transférase(GST)(Matés,1999), ont des mécanismes de défense enzymatique et non enzymatique dans les cellules des microorganismes, qui de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant appelés antioxydants(wassmann *et al.*, 2004).

Nous nous sommes intéressés à certaines enzymes qui sont encore plus importantes dans le rôle de détoxification de ROS :

Les enzymes catalases (Catalase A peroxydase et Catalase T cytoplasmique codées par deux gènes CTA1 et CTT1) (França *et al.*, 2005) peuvent réduire l'H₂O₂ et produire la molécule d'oxygène. Garre *et al.* (2010) ont étudié l'oxydation intracellulaire de la levure pendant la déshydratation (Garre *et al.*, 2010). L'oxydation peut augmenter jusqu'à 70% chez les souches dont la Catalase cytoplasmique manque ; la tolérance envers la déshydratation est en conséquence réduite. Cela démontre **le rôle de la Catalase dans la maintenance de la balance redox pendant la déshydratation** (França *et al.*, 2005; Garre *et al.*, 2010).

Cherit et Djebbar (2013) ont rapporté une augmentation de l'activité Catalase chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* soumis à un stress chimique. Il en est de même des travaux de Moumeni *et al.* (2016) et de Benosmane *et al.* (2015) qui ont mis en évidence une augmentation significative du taux de l'activité Catalase sous l'effet d'un stress chimique (un fongicide xéno-œstrogène et le Cycloxydin respectivement) chez des modèles biologiques différents respectivement des protistes ciliés *Paramecium sp.* et les têtards *Rana saharica*.

Nos résultats sont en accord avec les travaux suscités, en effet, nous avons pu mettre en évidence une atteinte du métabolisme des levures à travers l'augmentation du taux de la Catalase. La faible augmentation de cette enzyme chez les cultures de levures traitées dépendante de l'augmentation de la concentration de la pectine. Cette accroissement va dans le même sens que les cultures témoins (dépendante également des phases de croissance cellulaire).

Ceci explique l'intervention du système antioxydant en présence d'un stress chimique pour la maintenance de l'équilibre cellulaire.

Conclusion

Les microorganismes stressés subissent des changements de leur environnement. Les *Saccharomyces cerevisiae* sur lesquelles nous nous sommes appuyés pour mener nos recherches, constitue un matériel de choix pour les études toxicologiques. C'est un champignon microscopique efficace pour les recherches et les études scientifique par leur croissance rapide et leur vaste distribution dans l'environnement naturel.

Pour une contribution à l'étude de la toxicité de la pectine a des concentration choisies (3.25, 3.4 , 3.5 , 3.75 g/l) et en offrant un milieu favorable de la croissance des levures pour éviter toutes sortes de stresse extérieur, nous avons pu conclure que :

- Au niveau physiologique, la croissance de ces microorganismes est perturbée sous l'effet des différentes concentrations de la pectine.
- Au niveau biochimique, le métabolisme des protéines ainsi que la Catalase qui est un bio marqueur antioxydant sont perturbés sans qu'il y ait une véritable toxicité.

Ceci explique le déclenchement du système antioxydant lors de la détoxification de la cellule et le maintien de l'équilibre cellulaire

De ce fait la pectine n'est pas vraiment toxique aux concentrations choisies dans la présente étude.

La levure est un excellent bio indicateur de pollution.

Perspectives :

A partir de notre étude et des résultats obtenus, il serait intéressant de ressortir les perspectives suivantes :

- Impact toxicologique de concentrations supérieures (à celles utilisées dans notre travail) sur la levure *Saccharomyces cerevisiae*.
- Etude de l'effet de la pectine sur le métabolisme d'autres macromolécules particulièrement les glucides et les lipides de *Saccharomyces cerevisiae*.
- Evaluation de la toxicité d'autres émulsifiants chez d'autres modèles biologique animale.
- Etude de l'effet de la pectine sur d'autres enzymes antioxydants tel que Le glutathion
- Etude de l'Effet du complexe de bio-polymères (Glutathion) sur la protection de la levure.



**Référence
Bibliographique**

Référence Bibliographique

- **Adeinat L. (2018)** :L'impact des colorants et des conservateurs de l'industrie alimentaire sur notre santé, THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE, Université de POITIERS.
- **Aggoune B., Zerkane I., (2016)** : Etude du comportement rhéologique d'une levure *Saccaromyces cerevisiae* en milieu liquide. Mémoire de projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master. Université M'HAMED Bougara Boumerdes.40p.
- **Aguilar B.R., (2003)** : Influence des paramètres de croissance et des conditions de mise en œuvre sur la composition et l'architecture de la paroi cellulaire de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse de doctorat, INSA, Toulouse.
- **Aguilera F., Peinado R. A., (2006)**: "Relationship between ethanol tolerance, H⁺-ATPase activity and the lipid composition of the plasma membrane in different wine yeast strains." International Journal of Food Microbiology 110(1): 34-42 p.
- **Akhtar M., Dickinson E., Mazoyer J., Langendorff V. (2002)**: Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin, Food Hydrocolloids, 16 (3) : 249-256.
- **Amamra R., Djebar M.R., Grara N., Moumeni O., Otmani H, Alayat A., Berrebbah H., (2015)**: Cypermethrin-Induces Oxidative Stress to the Freshwater Ciliate Model: Paramecium tetraurelia. Annual Research & Review in Biology. 5(5): 385-399 p.
- **Angélique S.D., (2008)**: Effets biologiques des nanoparticules manufacturée influence de leur caractéristique. Thèse de doctorat, Université de Paris, 5-18 p.
- **Attfield P. V., (1997)**: "Stress tolerance: The key to effective strains of industrial baker's yeast." Nat Biotech 15(13): 1351-1357 p.
- **Azzouz Z., (2012)**: Etude des effets toxiques d'un fongicide (AmistarXtra) et d'un herbicide(Glyphosate) sur la biologie et le comportement de Parameciumtetraurelia. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba.141 p.
- **Barbara D.C. R., Daniel J. K., Tom P., and Gavin S., (2012)** : "Analysis of the *Saccharomyces cerevisiae* pan-genome reveals a pool of copy number variants

distributed in diverse yeast strains from differing industrial environments." *Genome research* 22: 908-924.

- **Bellam ., Fould S., (1996)** : Levure et panification -Nathan Communication Paris,-73 p.
- **BeMiller J. (1986)**: An Introduction to Pectins: Structure and Properties ,American Chemical Society 310:2-12.
- **Benosman.,(2015)**: Impact d'un mimétique œstrogène (MOS) sur un organisme bio indicateur de pollution : *R. saharica*.Annaba,-62-67p.
- **Bernstein H ., Bernstein C., (2019)** : Sexual Processes in Microbial Eukaryotes, Parasitology and Microbiology Research, Gilberto Antonio Bastidas Pacheco and Asghar Ali Kamboh, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.88469. Available from: <https://www.intechopen.com/books/parasitology-and-microbiology-research/sexual-processes-in-microbial-eukaryotes>.
- **Boucenna M., (2009)**: Evaluation de la toxicité des poussières métalliques rejetées par les aciéries 1et 2 du complexe sidérurgique d'EL-Hadjar sur un modèle bioaccumulateur *Helix aspersa*. Magister en biologie- Toxicologie. Université Badji Mokhtar d'Annaba, 85 p.
- **Bouix M., Leveau J.Y., (1993)** : Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. Ed. Technique et documentation-Lavoisier-Apria. Paris. 523p.
- **Bourgeois C.M., (1992)** :- Additifs conservateurs (antibactériens, antifongiques), Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agro-alimentaires, Technique et Documentation-Lavoisier, Paris, pp. 167-190 p.
- **Bourgeois CM., Larpent I.P., (1996)** : Microbiologie alimentaire Tome 2 : Aliments fermentés et fermentations alimentaires - 2ème édition Ed. Tec & Doc,-523 p.
- **Brigand G., Chaumontet C., Guion P., Hoellinger H., Leroux H., Manchon P., Martel P., Nordmann H., Pascal G., Rizzotti R., Blanquat G-S., Srvoz C., VERGER P., (1998)** :
- **Brignad.G., Chaumontet.C.,Guion.Ph., Hoellinger.H .(1998)** : dossier scientifique de l'IFN n° 10 les additifs .

- **Brudieux. V. (2007)** : Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques, Application de la relation structure /activité à la dermocosmétique , Thèse de Doctorat, Université de Limoges, France.
- **Camonis J.H., (1990)** : Modulation de l'activité des protéines RAS et régulation du cycle de division cellulaire de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse de doctorat. Paris. P : 196.
- **Capel F., Nicolai T., Durand D. (2005)** : Influence of Chain Length and Polymer Concentration on the Gelation of (Amidated) Low-Methoxyl Pectin Induced by Calcium ,*Biomacromolecules* 6 (6): 2954-2960.
- **Capel F., Nicolai T., Durand D. (2006)** : Calcium and Acid Induced Gelation of (Amidated) Low Methoxyl Pectin , *Food Hydrocolloids* 20 (6): 901-907.
- **Capel, F., Nicolai, T., Durand, D., Boulenguer, P., Langendorff, V. (2006)** : Calcium and acid induced gelation of (amidated) low methoxy pectin, *Food Hydrocolloids*, 20, 901 - 907.
- **Chagra A., Rouabhi R., Berrebbah H., and Djebbar M.R., (2007)**: The toxicity study of a systemic fungicide: artea 330 EC on the physiology and the respiratory metabolism of the tadpole (*Rana saharica*). *Commun Agric Appl Biol Sci.* 72(2): 191-195 p.
- **Chen J., Liu W., Liu C-M.,(2015)**: « Pectin Modifications: A Review ». *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55 (12): 1684-1698.
- **Cheriet A., Djebbar M. R., (2013)**: Evaluation of dihydropyridine calcium antagonist effects on the stress bioindicator organism *Saccharomyces cerevisiae*. *Annals of Biological Research.* 4 (10): 40-46p.
- **CODEX ALIMENTARIUS.(1989)** :Additifs alimentaires, version abrégée, division 3. Directive modifiée 95/2/CE du Parlement européen et du Conseil du 20 février 1995 concernant les additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants.
- **Davies KJ., (1987)**: Protein damage and degradation by oxygen radicals.I.General all aspects *Biolchem*, 262: 9895-9901p.
- **Ding J., X. Huang., (2009)**: "Tolerance and stress response to ethanol in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*." *Applied Microbiology and Biotechnology* 85(2): 253-263 p.

- **Directive 89/107/CEE du Conseil du 21 décembre (1988)** : relative au rapprochement des législations des États Membres concernant les Additifs pouvant être employés dans les denrées destinées à l'alimentation humaine' EUR-Lex [en ligne], 21 décembre 1988 [consulté le 20 mai 2022]. Disponible à l'adresse : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:31989L0107&from=FR>
- **Donato. L. (2004)** :Gélification et séparation de phase dans les mélanges protéines globulaires/pectines faiblement méthylées selon les conditions ioniques , Thèse de Doctorat,Université de Limoges, France.
- Dossir scientifique de l'IFN N°10.
- **Dupin H., Cuq J-L ., Malewiak M-L., leynaude-rouaud C., Berthier A-M., (1992)** : Alimentation et nutrition humaine .EFS éditeur, 17, Rue viète ,75017 Paris. 40 p.
- **Espitia. P.P.J., Du. W.X., Avena - Bustillos, R.D.J., Soares. N.D.F.F., McHugh. T.H. (2014)**: Edible films from pectin, physical-mechanical and antimicrobial properties – A review, Food Hydrocolloids, 35, 287 - 296.
- **Fay J.C., Benavides J.A., (2005)** : "Evidence for Domesticated and Wild Populations of *Saccharomyces cerevisiae*." PLoS Genet 1(1):e5 0066-0071.
- **Ferreira F., (1997)** : *Saccharomyces cerevisiae* : importance dans le développement des sociétés humaines. Rôle dans l'industrie agro-alimentaire et en thérapeutique. - 119 p. Thèse: Pharmacie: Paris XI.
- **Fishman, M.L., Jen, J.J. (1986)**: Chemistry and Function of Pectins. American Chemical Society.Washington.
- **França M. B., Panek A. D., (2005)**: "The role of cytoplasmic Catalase in dehydration tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*." Cell Stress & Chaperones 10(3): 167-170 p.
- **França M. B., Panek A. D., (2007)**: "Oxidative stress and its effects during dehydration." Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 146(4): 621-631 p.

- **Garcia-Diez F, Garcia Mediavilla V, and Bayon JE, Gonzales-Gallego J., (1996):** Pectin feeding influences fecal bile acid excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats.
- **Garre E., Raginel F., (2010):** "Oxidative stress responses and lipid peroxidation damage are induced during dehydration in the production of dry active wine yeasts." *International Journal of Food Microbiology* 136(3): 295-303 p.
- **Gharsallaoui. A. (2008) :**n. Microencapsulation d'un système lipidique par des macromolécules végétales (protéine de pois+pectine) , Thèse de Doctorat, Université de Bourgogne. France.
- **Gouget C., (2014) :** **Additifs alimentaires : Danger (15ème édition)**
- **Guinet R., Godon B., (1994) :** La panification Française Ed. Tec & Doc.521 p.
- **Guiraud J., Galzy P., (1980) :** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Ed. Les éditeurs de l'Usine Nouvelle. Paris. 236p.
- **Guiraud J.P., (1998) :** Microbiologie alimentaire. Et Dunod, Paris, 310-321 (Thuriaux, 2004).
- **Herskowitz I., (1988) :** Life cycle of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* *Microbial Rev* 52(4), 536-53p.
- **Hesclot L., Vladescu B.,(1994) :** La levure dans les industries alimentaires Ed. Tec &Doc, Lavoisier, 1994.-56 p.
- **Hotchkiss, A.T., Savary, B.J., Cameron, R.G., Chau, H.K., Brouillette, J., Luzio, G.A., Fishman, M.L. (2002) :** Enzymatic Modification of Pectin To Increase Its Calcium Sensitivity while Preserving Its Molecular Weight. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (10), 2931 - 2937.
- **Inghels.S.A.M. (2007) :** contribution à l'étude dans des liants dans les produits a base de viande ,thèse docteur vétérinaire, Université Paul-Sabatier ,Toulouse.
- **Jamieson D. J., (1998):** "Oxidative stress responses of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*." *Yeast* 14: 1511-1527 p.

- **Jespersen L., (2003)** : "Occurrence and taxonomic characteristics of strains of *Saccharomyces cerevisiae* predominant in African indigenous fermented foods and beverages." FEMS Yeast Research 3(2), 191-200.
- **Joaquim.M. (2019)** : La Pectine, Applications d'un polymère biodégradable dans le domaine de la santé, thèse de doctorat, faculté de sante université d'Angers.
- **Jones ., coll ., (1981) ., winter.,(1988)** : Observations of a persistent upwelling center off Point Conception. California.In: Suess, E., Thiede, J. (ed.) Coastal upwelling.Plenum Press, New York, p. 37.
- **Jones OG., Decker EA., and McClements D.J., (2009)**: Formation of biopolymer particles by thermal treatment of β -lactoglobulin–pectin complexes. Food Hydrocolloids 23(5):1312-1321 p.
- **Khebbeb M.N., (2016)** : Evaluation d'une toxicité induite par des nanoparticules (ZnO) sur deux modèles biologiques unicellulaires (*Saccharomyces cerevisiae* et *Paramecium*sp).Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, 55-58-59 p.
- **Kreger V ., Rij N.J., (1984)** : The yeast, a Taxonomic Study, Elsevier Biomedical.
- **Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F., (1997)**: Bio- marqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux, Paris. 1-10 p.
- **Lapointe.G. (2007)** : Ph. D. (toxicologie) notions de toxicologie ,www.reptox.csst.qc.ca.
- **Larpent J. P ., Gourgoud M ., (1997)** : Mémento technique de microbiologie - 3ème édition Ed. Tec & Doc,-103.
- **Larpent J. P., (1991)** : Biotechnologie des levures. Ed. Masson. Paris, 426 p.
- **Larpent J. P., (1992)** : La microbiologie de la fermentation panaiere. (Ed) Technologie et documentation. Cedex. P : 51.
- **Larpent J. P., Gourgoud M., (1985)**. Elément de microbiologie. Ed. Herman. Paris. P: 464.
- **Larpent J.P., Gourgoud M ., Sanglier., (1992)** : Biotechnologies. Principes et méthodes : 574-581.

- **Leblonc., (1988)** : Etude des levures de vinification et des facteurs agissant sur la fermentation alcoolique. Thèse: Pharmacie, Nancy 1, n051 : p .235.
- **Lekikot Z ., Malki R., (2016)** : Etude de la production de la biomasse de *Saccharomyces cerevisiae* sur milieu optimisé à base de l'extrait de dattes déclassées. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. 62p.
- **Leroux J., Langendorff V., Schick G., Vaishnav V. & Mazoyer J. (2003)**: Emulsion stabilizing properties of pectin, *Food Hydrocolloids*, 17 (4) : 455–462.
- **Leveau I.V., Bouix M., (1993)** : Microbiologie industrielle: les micro-organismes d'intérêt industriel. Ed. Tec & Doc Lavoisier, France, p. 612.
- **Leyral G., Vierling É., (2007)** : Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires. 4ème édition, Doin, pp 20-36.
- **Liu L., Fishman M. L., Kost J., Hicks K. B. (2003)**: Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route, *Biomaterials*., 24(19), pp. 3333-3343.
- **Lu F., Wang Y., (2005)**: "Adaptive response of *Saccharomyces cerevisiae* to hyperosmotic and oxidative stress." *Process Biochemistry* 40(11): 3614-3618 p.
- **Lykkesfeldt J., Svendsen O., (2007)**: Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. *The Veterinary Journal*. 173: 502–511.
- **Ma M., Liu Z.L., (2010)**: "Mechanisms of ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*." *Applied Microbiology and Biotechnology* 87(3): 829-845 p.
- **Mates., (1999)**: Antioxidant enzymes and humandiseases. *ClinBiochem*, 32: pp. 595-603.
- **May. C.D. (1990)**: Industrial Pectins, Sources, Productions and applications, *Carbohydrate Polymens*, 12, 79 - 99.
- **Mell J.CH ., Burgess S.M., (2003)** : Yeast as a Model Genetic Organism. DOI: 10.1038/npg.els.0000821.
- **Mesbahi, G., Jamalian, J., Farahnaky, A., (2005)**: A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. *Food Hydrocolloids*, 19, 731 – 738.

- **Mesbahi. G., Jamalian. J., Farahnaky. A., (2005):** A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems, *Food Hydrocolloids*, 19, 731 - 738.
- **Michael B ., Stanley B ., Ian W., Dawes J., Richard D., Piet G., Gino H ., Klaas H., (2004) :** "The Metabolism and Molecular Physiology of *Saccharomyces cerevisiae*." CRC Press Second edition (Edited by J.Richard Dickinson and Michael Schweizer).
- **Michel .B. (2002) :** Conservation par les sucres ,confitures, gelées, fruits sur sucre. In , Technologies de transformation des fruits,Technique et documentation-Lavoisier (Ed). Paris, pp 421-425.
- **Ngouemazong, E.D., Christiaens, S., Shpigelman, A., Loey, A.V., Hendrickx, M. (2015):** The emulsifying and emulsion - stabilizing properties of pectin, A review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14, 705 - 718.
- **Noui Y., (2001) :** Optimisation de la production de la biomasse *Saccharomyces cerevisiae* cultivée sur extrait de datte. Mémoire d'ingénieur, Institut d'agronomie, Batna .p. 3...5-6-12-14-17-20-40-58.
- **Oakenfull, D., Scott, A. (1984):** Hydrophobic interaction in the gelation of high methoxyl pectins, *Journal of Food Science*,49 (4), 1093 - 1098.
- **Olano-Martin. E., Gibson, G.R., Rastall, R.A. (2002):** Comparison of the in vitro bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides, *J, Appl, Microb*, 93, 505 - 511.
- **Paquot M., Aguedo M., Combo A. M. M. (2007):** Analyse structurale des carraghénanes par hydrolyse enzymatique, Thèse de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale. France.
- **Perez-Rama M., Abeld A-J., Herrero L.CTorres E., (2001):** Class III metallothionins in reponse to cadmium toxicity in the marine microalga *Tetraselmis succica (Kylin)* Butch *Environnemental toxicology and Chemistry* , 20(9)-2061-t2066 p.
- **Pol D., (1996) :** Travaux pratiques de biologie des levures. Edition marketing, 158. P:21-56.
- **Powell D. A., Morris E. R., Gidley M. J. (1982):** Conformations and interactions of pectins, II. Influence of residue sequence on chain association in calcium pectate gels, *Journal of molecular biology* 155 (4): 517–531.

- **Ravanat G. et Rinaudo M. (1980):** Investigation on oligo-and polygalacturonic acids by potentiometry and circular dichroism , *Biopolymers* 19 (12): 2209–2222.
- **Regnault I.P., (1990) :** Microbiologie générale - Vol. Ed. Vigot .859 p.
- **Ridley, B.L., O’Neil, M.A., Mohnen, D. (2001):** Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling, *Phytochemistry*. 57, 929 - 967.
- **Rose A.H. , Harrison J.S ., (1971) :** the yeast vole, 4, 2^{ème} édition 297p .
- **Sato, Y., Miyawaki, O. (2008):** Analysis of Intermolecular Interaction among Pectin Molecules in Aqueous Sugar Solutions, *Food Science and Technology Research*,14 (3), 232-238.
- **Scriban R ., (1988) :** Les Industries Agricoles Alimentaires Ed. Tec & Doc, 1988.- 382p.
- **Skoneczna A., Micialkiewicz A., (2007):** "*Saccharomyces cerevisiae* Hsp31p, a stress response protein conferring protection against reactive oxygen species." *Free Radical Biology and Medicine* 42(9): 1409-1420 p.
- **Sparling D.W., Linder G., Bishop C.A., (2000):** Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles. In: SETAC Press, Pensacola, FL, 325 p.
- **Thakur , B.R., Singh, R.K., Handa, A.K. (1997):** Chemistry and uses of pectin, a review, *Crit. Rev, Food Sci, Nutr.* 37 (1), 47 - 73.
- **Thakur ,B.R., Singh. R.K. Handa. A.K. (1997):** Chemistry and uses of pectin: a review, *Crit. Rev, Food Sci, Nutr,* 37 (1), 47 - 73.
- **Thakur B. R., Singh R. K.,Handa A. K. (1997):** Chemistry and uses of pectin — A review , *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 37 (1): 47-73.
- **Thanh D.N., (2016) :** Protection de la levure *Saccharomyces cerevisiae* par un système biopolymérique multicouche : effet sur son activité métabolique en réponse aux conditions de l’environnement. *Mi- crobiologie et Parasitologie.* Université de Bourgogne.130p .
- **Thuriaux P., (2004) :** Les organismes modèles : "la levure".Ed. DECLIN. Paris.1-144 P.
- **Tilly G. (2010) :** « Pectines », *Techniques de l'ingénieur* 1-11.

- **Tortora G.J., Anagnostakos, N.P. (1987)** : Principes d'anatomie et de physiologie, Ed, INC, 5 ème édition, pp 688-693.
- **Townsend A.A.E .,(2006)** : "Population structure and gene evolution in *Saccharomyces cerevisiae*." FEMS Yeast Research 6(5) ,702-715.
- **Veal E. A., A. M. Day., (2007):** "Hydrogen Peroxide Sensing and Signaling." Molecular Cell 26(1): 1-14 p.
- **Vladescu B., (1994)** : La levure dans les industries alimentaires Ed. Tec & Doc, Lavoisier.-56p.
- **Voragen. A., Thibault, J.F., Pilnik, W., Axelos, M.A.V., Renard, C.M.G.C. (1995):** Pectins, Food polysaccharides and their applications. Editeur: Stephen, A.M., New York, Marcel Dekker, 287 – 339
- **Wassmann S., Wassmann K. and Nickenig G., (2004):** Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. Hyperten, 44: 381-386 p.
- **Werner W.M ., Braun E ., (1993)** : "Stationary phase in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*." Microbiological Reviews 57(2): 383-401.
- **Winter J.W., (1988)** : Ecological specialization of mammals in Australian tropical and sub-tropical rainforest: refugial or ecological determinism? Proceedings of the Ecological Society of Australia 15, 127-38.

Site web :

<https://www.etudier.com/dissertations/Micro-Organisme/557813.html> consulté le 15/05/2022